

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta  
tese será disponibilizado somente  
a partir de 03/06/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Araçatuba

**LEOPOLDO COSME SILVA**

**TESE DE DOUTORADO**

**Efeito de probióticos no desenvolvimento de lesão periapical  
induzida em ratos**

**Araçatuba, SP  
2019**

**LEOPOLDO COSME SILVA**

**Efeito de probióticos no desenvolvimento de lesão periapical  
induzida em ratos**

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Araçatuba, para obtenção de título de Doutor em Ciência Odontológica - Área de Concentração: Endodontia.

**Orientador:** Prof. Dr. Titular João Eduardo Gomes Filho

**Araçatuba, SP  
2019**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586e	<p>Silva, Leopoldo Cosme. Efeito de probióticos no desenvolvimento de lesão periapical induzida em ratos / Leopoldo Cosme Silva. – Araçatuba, 2019 96 f. : il. ; tab.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba Orientador: Prof. João Eduardo Gomes Filho</p> <p>1. Periodontite periapical 2. Probióticos 3. Endodontia I. T.</p> <p>Black D24 CDD 617.67</p>
-------	---

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

## *Dados curriculares - Leopoldo Cosme Silva*

<b>Nascimento</b>	18/10/1988 - Campos Gerais-MG
<b>Filiação</b>	Lucélia de Oliveira Rocha Silva Leonardo Anibal da Silva
<b>2008/2013</b>	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
<b>2015-2017</b>	Mestrado em Ciências Odontológicas pela Universidade Federal de Alfenas UNIFAL-MG sob a orientação da professora Naiana Viana Viola Nicoli e coorientação do professor João Eduardo Gomes Filho
<b>2015-2017</b>	Especialização em Endodontia pela Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP - FORP-USP sob a orientação do professor Antônio Miranda da Cruz Filho

# *Agradecimientos*

# *Deus e aos anjos da guarda*

Pela proteção e por serem meu guia durante a execução deste trabalho, onde nos momentos difíceis, de insegurança, incertezas e angustias, souberam me acalmar e me preparar para as próximas etapas.

## *Minha família*

Aos meus pais **Lucélia e Leonardo**, por sempre me apoiarem em minhas decisões, além de serem meus exemplos de humildade, honestidade e companheirismo que mesmo nos momentos mais difíceis sempre estiveram juntos na caminhada para nos oferecer o melhor dentro do que era possível. Meu pai, que logo no início do doutorado nos deixou fisicamente, porém sua presença espiritual sempre se fez presente me iluminando e me acalentando durante toda minha caminhada! Tenho certeza que neste momento ele está muito feliz com todas as conquistas alcançadas até aqui!

As minhas queridas irmãs **Larissa e Luciana** que sempre estiveram presentes em toda a minha formação, vibrando com cada conquista. Sou eternamente grato por nossa amizade. Ao **Cláudio** pelo companheirismo de longa data, me incentivando e ajudando, o que me permitiu ir além dos “muros da universidade”. Aos meus cunhados **Anderson e Erivelton** que sempre estão na torcida pelos meus objetivos.

# *Aos mestres*

Ao meu orientador **Prof. João Eduardo Gomes Filho** por inicialmente aceitar me orientar e por me receber de forma tão generosa. Obrigado por todas as oportunidades de crescimento que o senhor me ofereceu. Sua participação em minha formação foi essencial, pois seu profissionalismo, ética e competência são admiráveis e um caminho a ser seguido. Sempre irei me lembrar com muito carinho dos momentos que parávamos nossas obrigações para conversarmos sobre a vida, sobre o que eu esperava após concluir o doutorado e de quando o senhor colocava os prós e os contras das decisões que eu deveria tomar. Isso foi tão importante em minha formação pessoal e profissional, que com certeza, levarei comigo e aplicarei aos alunos, quando me tornar professor. Acredito que durante nossa formação precisamos de um orientador que saiba exigir e cobrar dentro daquilo que o aluno almeja, mas que além disso, tenha um lado humano que saiba nos acolher quando é necessário. O senhor tem esses dois lados, o que o torna um ser impar!!!

Foi verdadeiramente uma honra ter passado esses dois anos trabalhando com o senhor. **Muito obrigado, de coração, por tudo!!!**

A **Profa. Cristiane Duque** por toda a disponibilidade. Lembro-me quando o prof. João me pediu para procurá-la. Marquei uma reunião, de início um pouco tímido, mas logo percebi que estava diante de uma professora “ponta firme”. Impressionante como a senhora SEMPRE estava disponível (a qualquer hora, inclusive em outro país) para sanar dúvidas ou para discutir



metodologias. Sou muito grato por ter encontrado a senhora em meu caminho durante o doutorado. Muito obrigado por tudo!!!!

**Ao Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra.** O senhor é um espelho... Didática perfeita (como foi bom assistir suas aulas da graduação... após as aulas eu pensava: “como pode ser tão bom???”), idéias de pesquisas excelentes, e uma dedicação à pesquisa que é impar. Obrigado também prof, pela oportunidade que o senhor nos ofereceu de trabalharmos juntos no intercâmbio dos alunos do México. Foi uma troca de experiências muito produtiva!

**Ao Prof. Rogerio de Castilho Jacinto,** por aceitar ser meu coordenador no PAADES. Foi um período curto, porém de muita aprendizagem e satisfação. Obrigado também prof., pelas oportunidades de trabalhos na microbiologia e pela disponibilidade para uma “dedo de prosa” e conselhos durante toda minha formação!!!

**Ao Prof Dr. Edilson Ervolino,** por me receber no Departamento de Morfologia de forma tão receptiva. Muito obrigado prof. por estar sempre disponível para ajudar nos trabalhos paralelos e, sem pensar duas vezes, nos ceder material para as imunomarcações que gostaríamos de fazer!!! Não me lembro de pedir ao senhor um marcador e receber uma negativa! O senhor sempre foi muito generoso comigo, obrigado!!!

A **Prof<sup>a</sup>. Suely Regina Mogami Bomfim** por ter aceitado prontamente me auxiliar no processamento bioquímico. Muito obrigada prof<sup>a</sup> por todos os ensinamentos e pelas boas conversas que tínhamos entre uma análise e outra!!!

Ao **Prof. Gustavo Sivieri de Araújo** pelo ensinamentos transmitidos, pelas conselhos e por se interessar por toda minha formação! Obrigado também pela parceria na graduação durante o PAADES!!!

Ao **Prof. Eloi Dezan Júnior** pelos ensinamentos durante a clínica de graduação e por fazer parte de minha formação durante o doutorado!

Ao **Prof. Wilson Roberto Poi** por todo incentivo e pela dedicação quando eu precisei do senhor!

Ao **Prof. Fábio Colombo** e **Profa. Juliana Barbosa Nunes** por me receber na UNIFAL-MG e por todo apoio e paciência durante a realização deste projeto!!!

*Aos amigos*

**Renan** , meu grande amigo, companheiro de doutorado e confidente.

OBRIGADO por sempre estar ao meu lado, pelos experimentos em conjunto, por ter ido ao biotério em pleno carnaval cuidar deste projeto, que hoje se finaliza! Se hoje posso concluí-lo devo muito a você meu amigo!

Obrigado por NUNCA ter negado um pedido meu, e foram tantos... sempre só chamar. Fazendo uma análise de nossa amizade e caminhada, não disposto a ir ao departamento, independente do dia e da hora... era me lembro de discussões entre nós... me lembro de muitas cobranças de minha parte (rsrs), mas espero que tenha sido produtivo. Fico tão feliz por você conquistar seu espaço e seus objetivos! Você merece somente coisas boas, pois é um menino atencioso, responsável e amável! Obrigado por tudo meu amigo e tenho certeza que nossa amizade permanecerá!!! Aproveito, para agradecer a **Leticia Capalbo e sua família** que tive o grande prazer de conhecer... eu me sentia muito querido quando a cada evento de sua família, lá estava eu (rsrsrs). Quando estamos fora de casa, é importante encontrarmos um ambiente familiar, e eu senti isso com vocês!!! Obrigado por sempre me receber, pelas conversas, por ser tão atenciosa comigo! O Renan é um cara de sorte!!!

**Francine Benetti**, você é a pessoa mais especial e iluminada que pude conhecer dentro da pós graduação e na vida. Desde que te conheci, lá no mestrado, pensei: como ela é dedicada e atenciosa. Desde então, pegou na minha mão e me ensinou tudo, absolutamente TUDO que sei hoje. Horas e horas no micrótomos, no microscópio, na coradora, nas imunos e por ai vai, sempre com muita paciência, quase desenhando para que tudo saísse perfeito, como ela gosta e como ela sempre faz tudo... Se todos os programas de pós graduação tivessem alguém como você, com certeza, estaríamos em uma posição de destaque ainda maior!!!!

Com o tempo, fomos nos aproximando e uma amizade verdadeira se fez! Muito obrigado pelas inúmeras “consultorias” a qualquer hora e a qualquer dia, pelas confidências pessoais, pelas vezes que me levantou e disse: “Léo,

hoje você está cansado, não desanime, assisti um filme e depois volta para os estudos”... Você merece as melhores coisas que vida pode oferecer a alguém!!!! Franzinha acho que tudo o que eu escrever aqui não serão suficientes para agradecer sua amizade e tudo que fez por mim! Nossa amizade se fez na pós graduação, mas tenho certeza que será eterna! Conte SEMPRE comigo, para tudo!!! Você mora no meu coração!!!

**Carlos**, meu amigo, obrigado pelas parcerias na microbiologia (ate tarde da noite) e por se importar pelas minhas causas. Me lembro com muito carinho da sua disposição em querer me ajudar... bastava um pergunta, que vinham suas considerações pessoais seguido de um artigo! Muito obrigado meu amigo, pela sua amizade. Você merece tudo de bom e tenho certeza que irá conquistar tudo o que almeja! Você é muito especial para mim!!!

**Hiskell**, é possível uma amizade verdadeira acontecer após uma competição acirrada? Sim, é bastante possível e essa grande amiga é a prova disso. No começo, achei que não seríamos amigos, mas logo depois percebi como é você é uma pessoa boa de coração, de caráter e de alma! Sua amizade e sua ajuda nos momentos difíceis foram muito importantes para mim durante minha passagem por Araçatuba! Muito obrigado pela sua amizade! Você mora em meu coração e desejo que todos os seus sonhos sejam realizados, e tenho certeza que serão!!!!

**Cris, Jimena e Paulo** pessoas amáveis, dedicadas e cativantes. Vocês três foram muito especiais em minha formação. Obrigado pela amizade. Cris, é bonito de ver seu esforço, sua dedicação e seu comprometimento; Jimena, te

esperamos para o doutorado hein!!! Torço muito pelo seu sucesso; Paulo, como foi bom te conhecer... sempre com uma palavra sensata e amiga.

Sentirei muita falta de vocês!

**Pedro e Dani**, pelas risadas, conversas e pela amizade! Vocês são especiais e o sucesso de vocês é certo!!! Obrigado Pedro, por permitir trabalhar junto de você durante o seu mestrado e pelos trabalhos que realizamos juntos!

Torço muito por você e por vocês!!!

**Carol Barros e Marina Carminatti**, pelas boas conversas ao “pé” do micrótomo e pelas boas risadas. Torço muito pelo sucesso de vocês. Obrigado Carol pelas parcerias nos projetos paralelos que encaramos juntos. Foi muito prazeroso trabalhar com você e treinar insistentemente a punção cardíaca!!!!

**Ana Maria e Amanda** pelo riso fácil, por sempre estarem de bem com a vida. Como foi bom conviver com vocês!

**Carol Loureiro e Flávia**, pelas parcerias na graduação do noturno, pelas boas conversas e risadas! Vocês são especiais!!!

**Ju e Lariana** por sempre estarem alegres e muito elegantes em nosso departamento. Gosto muito de vocês!!!

**Marina Cury, Felipe, Nathalia, Henrique, Ana Paula, Ariany, Karina, Vanessa e Jesse** por dividirem comigo esta etapa. A convivência com vocês me engrandeceu e tornou o aprendizado mais prazeroso, em especial, a Karina... tenho um carinho especial por você, Ka!

Ao **Pedro**, por toda ajuda com a microtomografia computadorizada!

**“Dras Lindas”** que nos momentos de tristeza me fazem rir e enxergam os momentos difíceis com outros olhos. *Evelyn, Priti, Lais Mendes, Lais Silveira, Pri, Flavia, Helen e Miriana* vocês são especiais. **Lurian e Rayana**, obrigado pelas palavras de conforto, pela entrega em nossos momentos e pela amizade pura e verdadeira, que não espera nada em troca! Eu amo vocês!

## *Iniciação científica*

**Luanna, Alana e Fernanda**, obrigado por estarem presentes durante minha formação. Com vocês pude sentir como é ser “orientador” em uma iniciação científica. Foi muito prazeroso aprender com vocês! Obrigado pela ajuda durante os experimentos e que o período que passamos juntos seja apenas o início da caminhada para vocês!!!

## *Aos Funcionários*

**Nelci**, obrigado pela convivência agradável e por todos ensinamentos durante minha formação!!! **Peterson**, obrigada pela paciência, **Meire e Claudia**, pelo carinho que sempre me receberam na diretoria e por estarem sempre disponíveis para me ajudar!!! Aos **Funcionários da pós-graduação (Cristiane e Valeria)**, pelo auxílio nos problemas e assuntos burocráticos e por tentarem resolve-los da melhor maneira possível Obrigado!!!

*Fapesp*

Obrigado por permitir realizar esse sonho, concedendo minha bolsa (2017/08314-5) e também um auxílio para realização deste projeto (2017/08312-2).

“Você não sabe o quanto eu camínhei  
Pra chegar até aqui  
Percorri milhas e milhas antes de dormir  
Eu não cochilei  
Os mais belos montes escalei”



*Resumo Geral*

Cosme-Silva L. **Efeito de probióticos no desenvolvimento de lesão periapical induzida em ratos**. 2019. 97 f. [Tese]. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019.

## **Resumo Geral**

**Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da administração sistêmica de probióticos nos parâmetros hematológicos, microbiológicos do canal radicular e da saliva e no desenvolvimento da periodontite apical (PA) induzida em ratos.

**Material e Métodos:** Foram utilizados 24 ratos Wistar machos. PA foi induzida nos primeiros molares inferiores e superiores (lado esquerdo e direito). Os animais foram divididos em 3 grupos: controle, *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus acidophilus*. Os probióticos foram administrados por gavagem ( $10^9$  unidades formadoras de colônias (CFU)) diluídas em 5 mL de água durante o período de desenvolvimento da PA (30 dias). No trigésimo dia, foi realizada punção cardíaca para análise de hemograma, cálcio, fósforo e concentração de fosfatase alcalina no sangue. Além disso, foi realizada análise microbiológica do conteúdo do canal radicular e da saliva. Em seguida, os animais foram eutanasiados e a mandíbula e maxila foram removidas para análise da PA através da microtomografia computadorizada; análises histopatológicas (hematoxilina - H&E) e de imunomarcção para interleucina 10 (IL-10), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL), osteoprotegerina (OPG) e fosfase ácida resistente ao tataráto (TRAP). Os dados foram estatisticamente analisados com nível de significância de 5%.

**Resultados:** A fosfatase alcalina foi maior nos grupos que consumiram probióticos ( $p>0.05$ ). A contagem total de microrganismos no canal radicular/saliva, o infiltrado inflamatório e a imunomarcção para IL-1 $\beta$  e IL-6 no PA foram menores nos grupos probióticos quando comparados ao controle ( $p<0.05$ ). Observou-se que a IL-10 foi mais imunomarcada nos grupos probióticos do que no grupo controle ( $p<0.05$ ). Menor volume de reabsorção óssea foi observada nos grupos que consumiram probióticos ( $p<0.05$ ). A imunomarcção para RANKL e TRAP foram menores nos grupos probióticos quando comparados ao controle ( $p<0.05$ ). Observou-se que a OPG foi mais imunomarcada no grupo *Lactobacillus acidophilus* do que no grupo *Lactobacillus rhamnosus* e controle ( $p<0.05$ ). Não houve diferença estatística na contagem de lactobacilos no canal radicular/saliva bem com no perfil hematológico, cálcio e fósforo entre os grupos ( $p>0.05$ ).

**Conclusão:** A suplementação com probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus*

*acidophilus*) teve um efeito significativo na redução da severidade da PA em ratos, assim como na redução dos microorganismos totais do canal radicular/saliva concomitantemente com o aumento da fosfatase alcalina sanguínea, demonstrando a capacidade dos probióticos na modulação do desenvolvimento da PA.

**Palavras chaves:** periodontite periapical, endodontia, probiótico.

*General abstract*

Cosme-Silva L. **Effect of probiotics on the development of induced periapical lesion in rats**. 2019. 97 f. [Thesis, PhD]. School of Dentistry, São Paulo State University, Araçatuba, Brazil. 2019.

**Aim:** The objective of the present study was to evaluate the effect of systemic administration of probiotics on haematological, microbiological parameters of the root canal and saliva and on the development of apical periodontitis (AP) induced in rats

**Materials and Methods:** Twenty-four male Wistar rats were used. PA was induced in the lower and upper first molars (left and right side). The animals were divided into three groups: control, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus acidophilus*. Probiotics were administered by gavage (10<sup>9</sup> colony forming units (CFU)) diluted in 5 mL of water during the developmental period of PA (30 days). On the thirtieth day, cardiac puncture was performed for hemogram, calcium, phosphorus and alkaline phosphatase concentration in the blood. In addition, a microbiological analysis of the root canal and saliva contents was performed. Afterwards, the animals were euthanized and the mandible and maxilla were removed for analysis of PA by computerized microtomography; interleukin 10 (IL-10), interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL), osteoprotegerin (OPG) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). The data were statistically analyzed with significance level of 5%.

**Results:** Alkaline phosphatase was higher in the groups that consumed probiotics ( $p > 0.05$ ). The total count of microorganisms in the root canal/saliva, inflammatory infiltrate and immunolabeling for IL-1 $\beta$  and IL-6 in BP were lower in the probiotic groups when compared to the control group ( $p < 0.05$ ). It was observed that IL-10 was more immunolabelled in the probiotic groups than in the control group ( $p < 0.05$ ). Lower volume of bone resorption was observed in the groups that consumed probiotics ( $p < 0.05$ ). Immunoblotting for RANKL and TRAP were lower in probiotic groups when compared to control ( $p < 0.05$ ). It was observed that OPG was more immunolabelled in the *Lactobacillus acidophilus* group than in the *Lactobacillus rhamnosus* group and control ( $p < 0.05$ ). There was no statistically significant difference in the lactobacillus count in the root canal / saliva as well as in the hematological profile, calcium and phosphorus between the groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Supplementation with probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus acidophilus*) had a significant effect on the reduction of PA severity in rats, as well as the reduction of total root canal/saliva microorganisms concomitantly with increased alkaline

phosphatase blood, demonstrating the capacity of probiotics in modulating the development of PA.

**Keywords** apical periodontitis, endodontics, probiotic.

# *Sumário*

	<b>Páginas</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	1
<b>OBJETIVOS</b>	6
<b>Artigo 1</b> <i>Systemic administration of probiotics reduces the severity of apical periodontitis and counting of total microorganisms in saliva and root canal</i>	8
Abstract	10
Introduction	11
Material and Methods	12
Results	16
Discussion	22
Conclusion	25
References	26
Legends	30
<b>Artigo 2</b> <i>Dietary supplementation with <i>Lactobacillus Rhamnosus</i> and <i>Acidophilus</i> reduces inflammation and bone resorption in apical periodontitis.</i>	32
Abstract	34
Introduction	35
Material and Methods	35
Results	39
Discussion	44
Conclusion	47
References	47
Legends	50
<b>ANEXO A</b> Referências introdução geral	52
<b>ANEXO B</b> Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)	57
<b>ANEXO C</b> Author Guidelines International Endodontic Journal	58



# *Introdução Geral*

## Introdução Geral

Probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro podendo interferir no processo saúde-doença (Guarner et al., 2005; Bosch et al., 2012). Os principais microrganismos utilizados como probióticos são bactérias do gênero *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus* e *Bifidobacterium* (Vivekananda et al., 2010; Bron et al., 2012; Teughels et al., 2013). Os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são microrganismos encontrados em alguns alimentos, como iogurtes, e são considerados probióticos devido à sua capacidade para modular a composição e atividade metabólica da flora intestinal e melhorar o sistema imunológico em humanos (Spanhaak et al, 1998; Nagao et al, 2000, Messoria et al., 2016). Após o consumo, os probióticos se mantêm estáveis após a passagem pelo trato gastrointestinal devido às suas propriedades acidogênicas (Yuki et al, 1999).

Aparentemente, o mecanismo de ação dos probióticos é baseado na modificação do ambiente bacteriano patogênico através da competição entre patógeno X probiótico, modulando positivamente a resposta imune do hospedeiro (Teughels et al., 2011; Lodi et al., 2015). Os principais efeitos dessa competição são atribuídos à capacidade de aumentar a atividade dos macrófagos, defesa imune, elevar o número de “NK cells” e interferons (Spanhaak et al, 1998; Nagao et al, 2000; Teughels et al., 2011). Foi demonstrado que em modelos animais com sensibilização alérgica os probióticos administrados oralmente diminuíram a produção alergênico-específico de IgE, em parte pela modulação da produção de citocinas sistêmicas (Borchers et al., 2009).

Existem evidências de que a colonização do intestino por probióticos pode causar efeitos benéficos sistêmicos promovendo proteção contra doenças em sítios distantes (Kobayashi et al., 2017). Apesar de ainda não estarem completamente esclarecidos os mecanismos, pensa-se que o efeito imunoestimulador pode estar relacionado com a capacidade dos probióticos interagirem com as placas de Peyer (aglomerados de folículos linfóides situados na parede do intestino delgado), presentes no intestino (Coppola & Turnes, 2004; Bermudez et al., 2012). Desta interação resulta a estimulação dos linfócitos B, a produção de imunoglobulina A (IgA), e a migração de linfócitos T do intestino (Coppola & Turnes, 2004; Bermudez et al., 2012). Sugere-se que quando o probiótico é administrado por via oral seus efeitos benéficos estão relacionados à prevenção da adesão de microrganismos patogênicos nos tecidos do hospedeiro ao passar pela cavidade bucal na ingestão, estímulo e

modulação do sistema imune, regulação da produção de citocinas, como por exemplo a IL-10 e IL-1 $\beta$  (Coppola & Turnes, 2004; Koduganti et al., 2011; Bermudez et al., 2012). Além disso, o uso de probióticos melhora a integridade da barreira intestinal, aumento da produção de mucinas e eliminação ou inibição do crescimento de patógenos pela produção de bacteriocinas ou outros produtos, como ácidos e peróxidos (Coppola & Turnes, 2004; Koduganti et al., 2011; Bermudez et al., 2012).

Em estudo conduzido por Li et al. (2016), foi demonstrado que o uso de probióticos do tipo *Lactobacillus rhamnosus* em ratos com deficiência de esteróides sexuais pode minimizar o processo inflamatório intestinal e também protege contra a perda óssea. Os autores propõem que a administração do *Lactobacillus rhamnosus* pode ser uma estratégia terapêutica para a osteoporose pós-menopausa. Amdekar et al., (2016) também demonstraram que este mesmo probiótico influencia nas vias inflamatórias através da regulação de citocinas pró-inflamatórias. Montazeri-Najafabady et al. (2018) demonstraram que o *Lactobacillus acidophilus* inibiu a perda óssea induzida pela ovariectomia de ratas. Amdekar et al. (2013) e Lee et al. (2018) avaliaram o efeito do *Lactobacillus acidophilus* na osteoartrite induzida em ratos e descobriram que o lactobacilos apresentou propriedades anti-nociceptivas e protegeu contra a destruição da cartilagem.

Uma série de benefícios decorrentes da utilização de probióticos tem sido demonstrada incluindo o aumento a resistência a doenças infecciosas, alívio da intolerância à lactose, prevenção de doenças intestinais como diarreias, prevenção de infecções vaginais e urogenitais, redução de quadros alérgicos e infecções respiratórias, diminuição da concentração de colesterol sérico e aumento da resistência à quimioterapia (Perdigon et al., 1995; Vanderhoof et al., 1999; Arunachalam et al., 2000; Hatakka et al., 2001; Von Bültzingslöwen et al., 2003; Stamatova & Meurman 2005; Vuotto, et al., 2014). Além disso, os efeitos positivos do uso de probióticos também estão relacionados com infecções da cavidade oral (Meurman et al., 2005).

Independentemente da ação que se espera com o uso dos probióticos, a maioria deles coloniza o intestino apenas temporariamente (Collado et al., 2009). Assim, para obter benefícios na saúde, o consumo deve ser diário (Hasslöf et al., 2013). Contudo, os probióticos têm sido historicamente pouco investigados a partir da perspectiva da saúde bucal quando comparado com a saúde geral. Esta tendência foi alterada na última década e estudos foram realizados a fim de avaliar o efeito dos probióticos para a saúde oral (Bosch et al., 2012;

Hasslöf et al., 2013; Lodi et al., 2015; Gruner et al., 2016; Elavarasu et al., 2016; Messora et al., 2016).

Os probióticos podem ser benéficos para prevenir ou tratar doenças orais como cárie, gengivite ou periodontite, que estão associadas a uma alteração na composição e atividade do biofilme bacteriano (Gruner et al., 2016). Existem vários mecanismos pelos quais os probióticos podem influenciar a saúde oral, por exemplo modulação imunológica, impacto sobre o microbioma oral, produção de substâncias antimicrobianas pelo probiótico e exclusão competitiva de bactérias patogênicas dificultando a adesão de patógenos orais (Teughels et al., 2011). Os efeitos dos probióticos nos patógenos causadores da cárie ou doenças periodontais têm sido estudados *in vitro* com bons resultados inibitórios (Chuang et al 2011; Lee et al., 2011; Schwendicke et al., 2014).

Do ponto de vista cariogênico, os estudos sobre os probióticos se concentraram principalmente sobre o seu potencial efeito antagonista nos *Streptococcus mutans* (Cagetti et al., 2013). Os estudos indicam que a suplementação com probióticos levam a uma diminuição nas contagens de *Streptococcus mutans* salivares (Caglar et al., 2008; Toiviainen et al., 2015).

Na periodontia, probióticos tem efeito positivo no controle de placa, alterando a colonização bacteriana e na melhoria dos parâmetros clínicos tais como redução do sangramento gengival, redução da profundidade de bolsas periodontais e diminuição da perda de inserção clínica (Elavarasu et al., 2016, Messora et al., 2016). Isso ocorre, pois os probióticos inibem a adesão e o crescimento de patógenos pela produção de várias substâncias que, em última análise, inibem a formação de biofilme. Bactérias do tipo *Bacillus* combinada com raspagem e alisamento radicular podem melhorar os parâmetros periodontais e atrasar a recolonização de bolsas periodontais (Messora et al., 2016). Os efeitos dos probióticos sobre patógenos periodontais receberam pouco interesse até agora, embora, a administração de alguns probióticos tem sido associada com características saudáveis de gengiva e boas condições periodontais (Teughels et al., 2011; Messora et al., 2016).

Na endodontia, está bem estabelecido que as bactérias fazem parte da etiologia das lesões pulpares e periradiculares e o objetivo da terapia endodôntica é alcançar a redução significativa na carga bacteriana intracanal (Subramanian et al., 2009, Signoretti et al., 2013). A patogênese das lesões periapicais envolve uma série complexa de resposta imune inflamatória à infecção bacteriana do sistema de canais radiculares podendo levar a destruição de tecidos periapicais (Subramanian et al., 2009; Graves et al., 2001). Quando a lesão periapical está instalada, citocinas inflamatórias possuem um papel importante na resposta

imune, iniciando e coordenando eventos celulares e regulando a resposta do hospedeiro às endotoxinas. Além disso, a reabsorção óssea que ocorre nestas patologias aparece como um fator determinante à expansão destas lesões, sendo iniciada pela proliferação de células precursoras de osteoclastos imaturos e diferenciação das mesmas em células osteoclásticas maduras que promovem a degradação dos componentes ósseos orgânicos e inorgânicos. RANKL é uma molécula chave na ativação de osteoclastos e OPG é um receptor para RANKL. O aumento na taxa de RANKL/OPG favorece a reabsorção óssea através de osteoclastogênese e ativação de osteoclastos (Kajiya et al., 2010, Gomes Filho et al., 2015, Martins et al., 2016; Dal-Fabbro et al., 2018).

Até o momento, poucos estudos relacionam probióticos com a endodontia (Bohora et al., 2017; El-Sayed et al., 2019). Bohora et al., (2017) avaliaram a eficácia antibacteriana de probióticos contra patógenos endodônticos como *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* e demonstraram que probióticos das espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foram eficazes na prevenção do crescimento de *E. faecalis* e *C. albicans* (*in vitro*). El-Sayed et al., (2019) avaliaram o efeito inibitório de *Lactobacillus rhamnosus* como um probiótico irrigante no crescimento de *Enterococcus faecalis* e chegaram a conclusão que o lactobacilos poderia ser usado como um novo agente irrigador seguro. Contudo, a possível ação sistêmica dos probióticos no desenvolvimento da PA ainda não foi investigada. A hipótese nula testada neste estudo foi de que não haveria diferença na gravidade da PA em ratos que receberam ou não a administração sistêmica de probióticos.

#### **\*Referências da Introdução Geral em Anexo A**