



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

**JÚLIA PERES MENDONÇA WERLANG**

**Influência da Coenzima Q10 utilizada como  
coadjuvante local e/ou sistêmica ao tratamento  
mecânico da periodontite experimental em ratos**

Araçatuba

2024

**JÚLIA PERES MENDONÇA WERLANG**

**Influência da Coenzima Q10 utilizada como  
coadjuvante local e/ou sistêmica ao tratamento  
mecânico da periodontite experimental em ratos**

Trabalho de conclusão de  
curso apresentado à  
Faculdade de Odontologia de  
Araçatuba da  
Universidade  
Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita  
Filho" - UNESP, como  
parte dos requisitos  
para a obtenção do  
título de Bacharel em  
Odontologia.

Orientador: Prof. Dr.  
Juliano Milanezi de  
Almeida

**ARAÇATUBA**

**2024**

*Aos meus avós que nunca pouparam esforços para me dar o futuro que eles não tiveram, à minha irmã gêmea que esteve presente durante toda a caminhada cursando odontologia junto a mim, à Elisa Furquim com a sua paciência infinita para me auxiliar, ao meu namorado que me impulsiona a ser melhor a cada dia, e a mim, que me apaixonei por essa profissão linda e tive disciplina para finalizar o curso.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem e do vice-diretor Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra.

Ao Prof. Dr. Juliano Milanezi de Almeida, pelo voto de confiança em me acolher como orientada, me incentivar a permanecer no curso após a pandemia e a ver a vida de maneira mais gentil e serena.

À Agência de Fomento, FAPESP, processo 2020/07340-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

***"A obsessão ganha do talento, todas as vezes"***  
***Arremessando Alto***

WERLANG, JPM. **Influência da Coenzima Q10 utilizada como coadjuvante local e/ou sistêmica ao tratamento mecânico da periodontite experimental em ratos.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2024.

## RESUMO

O propósito do estudo foi avaliar a influência da coenzima Q10 (CQ10) administrada localmente e/ou sistemicamente coadjuvante à raspagem e alisamento radicular (RAR) no tratamento da periodontite experimental (PE) induzida em ratos. Oitenta ratos machos (*Wistar*) foram divididos em 5 grupos (n=16) de acordo com os tratamentos que foram realizados: **PE- RAR:** irrigação subgengival com solução salina (SS); **PE-RAR/Q10L:** irrigação subgengival com 1ml solução de CQ10; **PE-RAR/S:** gavagem gástrica diária de 1 ml de glicerina vegetal; **PE-RAR/Q10S:** gavagem gástrica diária com 120 mg de CQ10; **PE-RAR/Q10LS:** irrigação subgengival com 1ml solução de CQ10 e gavagem gástrica diária com 120 mg de CQ10. Nos 15 dias que antecedem o tratamento, um fio de algodão foi colocado ao redor dos primeiros molares inferiores esquerdos para indução da PE. No dia 0, foi realizado RAR em todos os animais e a irrigação subgengival e/ou tratamento sistêmico foram realizados de acordo com os grupos experimentais. As eutanásias no período de 7 dias e 28 pós tratamento foram realizadas. As peças coletadas foram processadas com desmineralização e foram realizadas as análises histopatológica, histométrica (porcentagem de osso na furca) e imunoistoquímica para detecção de Fator de Necrose Tumoral (TNF-  $\alpha$ ). Os dados histométricos foram analisados usando o software BioStat, a normalidade e a homocedasticidade dos dados foram analisadas através do teste Shapiro-Wilk, posteriormente, os mesmos foram submetidos ao teste paramétrico Anova: dois critérios (two-way ANOVA) e pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p \leq 0,05$ ). Os grupos PE-RAR/Q10L-28d, PE- RAR/Q10S-7d, PE-RAR/Q10S-28d, PE-RAR/Q10LS-7d e PE-RAR/Q10LS-28d demonstraram características histopatológicas mais favoráveis como diminuição do processo inflamatório e da reabsorção óssea, maior POF e menores escores de imunomarcção para TNF-  $\alpha$  em comparação com os grupos PE-RAR-7d, PE-RAR-28d, PE-RAR/S-7d, PE-RAR/S-28d e PE-RAR/Q10L-7d.

Conclui-se que a Coenzima Q10 administrada localmente e/ou sistemicamente coadjuvante à raspagem e alisamento radicular influenciou de forma favorável e segura o tratamento da periodontite experimental induzida em ratos, diminuindo o processo inflamatório e aumentando os estímulos a formação óssea na região de furca dentária, ocasionando o reparo dos tecidos periodontais.

**Palavras-chaves:** Periodontite. Ubiquinona. coenzima Q.

WERLANG, JPM. **Influence of Coenzyme Q10 used as a local and/or systemic adjuvant to the mechanical treatment of experimental periodontitis in rats.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2024.

## ABSTRACT

The purpose of the study was to evaluate the influence of coenzyme Q10 (CQ10) administered locally and/or systemically as an adjunct to scaling and root planing (RAR) in the treatment of experimental periodontitis (EP) induced in rats. Eighty male rats (Wistar) were divided into 5 groups (n=16) according to the treatments that were performed: PER- RAR: subgingival irrigation with saline solution (SS); PE-RAR/Q10L: subgingival irrigation with 1ml CQ10 solution; PE-RAR/S: daily gastric gavage of 1 ml of vegetable glycerin; PE- RAR/Q10S: daily gastric gavage with 120 mg of CQ10; PE-RAR/Q10LS: subgingival irrigation with 1ml CQ10 solution and daily gastric gavage with 120 mg CQ10. In the 15 days before the treatment, a cotton thread was placed around the lower left first molars for PE induction. On day 0, RAR was performed in all animals and subgingival irrigation and/or systemic treatment were performed according to the experimental groups. Euthanasia within 7 days and 28 days after treatment were performed. The collected pieces were processed with demineralization and histopathological, histometric (percentage of bone in the furcation) and immunohistochemical analyzes were performed to detect Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ ). The histometric data were analyzed using the BioStat software, the normality and homoscedasticity of the data were analyzed using the Shapiro-Wilk test, subsequently, they were submitted to the ANOVA parametric test: two criteria (two-way ANOVA) and tukey. The significance level adopted was 5% ( $p \leq 0.05$ ). The PE-RAR/Q10L-28d, PE-RAR/Q10S- 7d, PE-RAR/Q10S-28d, PERAR/Q10LS-7d and PE-RAR/Q10LS-28d groups showed more favorable histopathological characteristics such as a decrease in the and bone resorption, higher POF and lower TNF- $\alpha$  immunostaining scores compared to the PE-RAR-7d, PE-RAR- 28d, PE-RAR/S-7d, PERAR/S-28d and PE-RAR/Q10L-7d.

It is concluded that Coenzyme Q10 administered locally and/or systemically as an adjunct to scaling and root planing favorably and safely influenced the treatment of experimental periodontitis induced in rats, decreasing the inflammatory process and increasing the stimuli for bone formation in the tooth furcation region , causing the repair of periodontal tissues.

**Keywords:** Periodontitis. Ubiquinone. Coenzyme Q.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Irrigação subgingival após o tratamento periodontal nos grupos PERAR/Q10Le PE- RAR/Q10LS com coenzima Q10.

**Figura 2**- Linha do tempo.

**Figura 3**- Gráfico mostrando a quantificação ( $M \pm DP$ ) da porcentagem de osso na furca (POF) para cada grupo e período. Testes estatísticos usados: ANOVA Two-way e pós teste de Tukey.

\*, diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,01$ ) quando comparado com os grupos PE-RAR-7d e PE-RAR/S-7d;  $\alpha$ , diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,01$ ) quando comparado com os grupos PE-RAR-28d e PE-RAR/S-28d; †, diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) quando comparado com o grupos PE-RAR/Q10L-7d.

**Figura 4**– Prancha representativa dos tecidos periodontais na região de furca dos primeiros molares inferiores. (A) PE-RAR-7 dias; (B) PE-RAR/Q10L-7 dias; (C) PE-RAR/S-7 dias; (D) PE-RAR/Q10S-7 dias; (E) PE- RAR/Q10LS-7 dias; (F) PE-RAR-28 dias; (G) PE-RAR/Q10L-28 dias; (H) PE-RAR/S-28 dias; (I) PE-RAR/Q10S-28 dias; (J) PE-RAR/Q10LS-28 dias. Aumento de 2,5  $\mu m$ .

**Figura 5**– Prancha representativa da marcação imunoistoquímica para TNF-  $\alpha$  nos tecidos periodontais na região de furca dos primeiros molares inferiores. (A) PE-RAR-7 dias; (B) PE-RAR/Q10L-7 dias; (C) PE- RAR/S-7 dias; (D) PE-RAR/Q10S-7 dias; (E) PERAR/Q10LS-7 dias; (F) PE-RAR-28 dias; (G) PE- RAR/Q10L-28 dias; (H) PE-RAR/S-28 dias; (I) PE-RAR/Q10S-28 dias; (J) PE-RAR/Q10LS-28 dias. Aumento de 40  $\mu m$ .

**Tabela 1**- Grupos experimentais. S-administração sistêmica de glicerina vegetal; Q10Ltratamentolocal com Q10; Q10Sratamento sistêmico com Q10; Q10LS-tratamento local e sistêmico com Q10.

**Tabela 2**- Tabela com os escores de imunomarcção para TNF- $\alpha$  para os grupos experimentais e períodos.

## **LISTA DE SIGLAS**

|       |                                 |
|-------|---------------------------------|
| PE    | Periodontite Experimental       |
| RAR   | Raspagem e alisamento radicular |
| POF   | Porcentagem de Osso na Furca    |
| Q10L  | Coenzima Q10 local              |
| S     | Terapia sistêmica               |
| Q10S  | Coenzima Q10 sistêmica          |
| Q10LS | Coenzima Q10 local e sistêmica  |
| SS    | Solução salina                  |
| CQ10  | Coenzima Q10                    |

**SUMÁRIO**

INTRODUÇÃO..... 12

OBJETIVO ..... 14

MATERIAL E MÉTODOS ..... 15

RESULTADOS..... 22

DISCUSSÃO ..... 27

CONCLUSÃO..... 29

REFERÊNCIAS ..... 30



## INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença multifatorial e inflamatória que afeta as estruturas de suporte dentária, tendo como principal fator etiológico a placa bacteriana<sup>1,2</sup>. Apresenta características clínicas como a migração do epitélio juncional e a perda de osso alveolar, ocasionando a perda de inserção dos tecidos supracrestais, formação de bolsas periodontais e sangramento à sondagem<sup>3,4</sup>.

Sabe-se que a periodontite é uma doença onde há a produção de espécies reativas de oxigênio em excesso, ocasionando em um estresse oxidativo<sup>5,6,7</sup> (ROS). Adicionalmente, alguns estudos mostram que após o início da resposta da doença, os neutrófilos se tornam as células em maior número e presença nos tecidos periodontais e na bolsa periodontal, além disso sugerem que os mesmos sejam a fonte de ROS<sup>8,9</sup>.

O tratamento convencional da periodontite consiste na raspagem e alisamento radicular (RAR) das superfícies radiculares com a finalidade de remoção de placa dentária e cálculo dental<sup>10</sup>. No entanto, algumas terapias coadjuvantes e profiláticas podem ser associadas à RAR, como o uso de antioxidantes, mostrando efeitos positivos no tratamento da gengivite e periodontite<sup>11,12</sup>. A Coenzima Q10 (CQ10), também conhecida como ubiquinona, vem sendo estudada pelo seu efeito antioxidante e capacidade de eliminação de radicais livres<sup>13</sup>, mostrando resultados favoráveis para doenças cardiovasculares, diabetes, doença de Parkinson e doença periodontal<sup>14</sup>.

A CQ10 é intrínseca no tecido humano, inclusive na gengiva, e exerce papel importante na transferência de elétrons na mitocôndria<sup>15,16</sup>. No entanto, há uma deficiência de CQ10 em tecidos como o coração, mucosa gástrica e gengiva<sup>17</sup>. De modo interessante, foi demonstrado por meio de biópsia de tecido gengival que, em pacientes com periodontite há uma deficiência de CQ10 notando-se, também, deficiência nos leucócitos no sangue periférico<sup>16,18</sup>.

Dentre os efeitos da CQ10 destaca-se o efeito antioxidante intracelular e sua capacidade de eliminar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS)<sup>19</sup>. Recentemente, Hornos Carneiro *et al.* (2020) demonstraram que o efeito antioxidante da CQ10 neutralizou a toxicidade causada pelo Bisfenol A (BPA) em células de vermes *Caenorhabditis elegans* e ainda que sua suplementação seria benéfica para reduzir os danos à fertilidade que o BPA exerce<sup>20</sup>.

Mathena *et al.* (2015), demonstraram que a suplementação por via oral do CQ10 obteve melhoras significativas na inflamação gengival<sup>12</sup>. Além da administração sistêmica da CQ10, pode-se realizar a aplicação tópica nas bolsas gengivas, como alguns autores demonstram e evidenciam respostas favoráveis para o tratamento da doença periodontal<sup>21,22</sup>.

Sabe-se que a periodontite é uma doença que causa estresse oxidativo e a produção de ROS<sup>5,6,7</sup>. Apesar dos estudos mostrarem melhoras na inflamação gengival com o uso da CQ10, pouco se sabe da sua ação específica no periodonto. Diante da falta de informações na literatura de como a CQ10 atua nas células do periodonto e na reparação tecidual associada à RAR, estudos sobre o reparo tecidual nestas condições mostram-se bastante pertinentes. A partir do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da coenzima Q10 administrada localmente e/ou sistemicamente coadjuvante à raspagem e alisamento radicular no tratamento da periodontite experimental induzida em ratos.

**OBJETIVO**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a efetividade da coenzima Q10 administrada localmente e/ou sistemicamente coadjuvante à raspagem e alisamento radicular no tratamento da periodontite experimental induzida em ratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Animais*

Foram utilizados 80 ratos machos com 3 meses de idade (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*) pesando aproximadamente 250 a 300 g. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com no máximo quatro animais, com ração e água *ad libitum*. Antes dos procedimentos cirúrgicos todos os animais foram mantidos em ambiente com temperatura estável ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por um período de 5 dias para aclimatização. Todos os protocolos descritos foram enviados para Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP e foi aprovado e homologado (Processo FOA nº 00302-2020) (anexo). A pesquisa foi realizada seguindo as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e segundo o guia *The ARRIVE Guidelines: Animal Research: Reporting In Vivo Experiments*<sup>23</sup>.

### *Cálculo amostral e randomização*

O tamanho da amostra foi calculado com base na execução de um estudo piloto, experiência prévia, e respeitando as diretrizes dos NC3Rs (NC3Rs Reporting Guidelines Working Group, 2010)<sup>24</sup>. Sendo assim,  $n=8$  foi suficiente para rejeitar a hipótese nula nas análises histológica, histométrica e imunoistoquímica. A estimativa para cada medida de resultado foi realizada para atingir poder de 0,8 e erro alpha de 0,05.

O presente estudo seguiu um modelo controlado, randomizado e cego. Números de 1 a 80 foram marcados na porção superior da cauda dos animais utilizando caneta nankin. A sequência numérica foi carregada para o software Minitab® 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA) e uma randomização simples (1:1 taxa de distribuição) para os grupos PE-RAR 7 dias, PE-RAR 28 dias, PE-RAR/Q10L 7 dias, PE-RAR/Q10L 28 dias, PE-RAR/S 7 dias, PE-RAR/S 28 dias, PE-RAR/Q10S 7 dias, PE-RAR/Q10S 28 dias, PE-RAR/Q10LS 7 dias, PE-RAR/Q10LS 28 dias foi realizada através de uma tabela numérica randômica gerada em computador por uma pessoa externa ao estudo e cega aos tratamentos.

### *Grupos Experimentais*

**Grupo PE-RAR (n =16):** Nos 15 dias que antecederam o tratamento os animais tiveram a periodontite experimental (PE) induzida nos seus primeiros molares inferiores esquerdos. No dia zero, foi realizado o tratamento da PE através de RAR e irrigação subgengival com SS.

**Grupo PE-RAR/Q10L (n=16):** Nos 15 dias que antecederam o tratamento os animais tiveram a periodontite experimental (PE) induzida nos seus primeiros molares inferiores esquerdos. No dia zero, foi realizado o tratamento da PE através de RAR e irrigação subgengival com 1ml solução de CQ10.<sup>12,21</sup>

**Grupo PE-RAR/S (n=16):** Nos 15 dias que antecederam o tratamento os animais tiveram a periodontite experimental (PE) induzida nos seus primeiros molares inferiores esquerdos. No dia zero, foi realizado o tratamento da PE através de RAR e irrigação subgengival com SS. A partir do dia do tratamento os animais receberam diariamente, via gavagem gástrica, 1 ml de glicerina vegetal até o final do experimento.

**Grupo PE-RAR/Q10S (n=16):** Nos 15 dias que antecederam o tratamento os animais tiveram a periodontite experimental (PE) induzida nos seus primeiros molares inferiores esquerdos. No dia zero, foi realizado o tratamento da PE através de RAR e irrigação subgengival com SS. A partir do dia do tratamento os animais receberam diariamente, via gavagem gástrica, suplementação diária com 120 mg<sup>12,21</sup> de CQ10 até o final do experimento.

**Grupo PE-RAR/Q10LS (n=16):** Nos 15 dias que antecederam o tratamento os animais tiveram a periodontite experimental (PE) induzida nos seus primeiros molares inferiores esquerdos. No dia zero, foi realizado o tratamento da PE através de RAR e irrigação subgengival com 1ml solução de CQ10. A partir do dia do tratamento os animais receberam, via gavagem gástrica, suplementação diária com 120 mg<sup>12,21</sup> de CQ10 até o final do experimento. A organização dos grupos experimentais e períodos de eutanásia podem ser visualizados na Tabela 1.

**Tabela 1-** Grupos experimentais. **S**-administração sistêmica de glicerina vegetal; **Q10L**-tratamento local com Q10; **Q10S**-tratamento sistêmico com Q10; **Q10LS**-tratamento local e sistêmico com Q10

| <b>Grupos Experimentais</b>                |                       |                        |
|--------------------------------------------|-----------------------|------------------------|
| <b>Períodos de Eutanásia</b>               |                       |                        |
| <b>Grupo PE-RAR</b><br><b>(n=16)</b>       | 7 dias pós tratamento | 28 dias pós tratamento |
| <b>Grupo PE-RAR/Q10L</b><br><b>(n=16)</b>  | 7 dias pós tratamento | 28 dias pós tratamento |
| <b>Grupo PE-RAR/S</b><br><b>(n=16)</b>     | 7 dias pós tratamento | 28 dias pós tratamento |
| <b>Grupo PE-RAR/Q10S</b><br><b>(n=16)</b>  | 7 dias pós tratamento | 28 dias pós tratamento |
| <b>Grupo PE-RAR/Q10LS</b><br><b>(n=16)</b> | 7 dias pós tratamento | 28 dias pós tratamento |

### *Sedação e anestesia*

Para todos os procedimentos cirúrgicos (indução e tratamento da PE), os animais receberam anestesia geral, obtida pela associação de 70mg/kg de Cloridrato de quetamina (Vetaset – ZoetisFlorham Park, NJ – USA) e 6mg/kg Cloridrato de xilazina (Coopazine – Coopers São Paulo – Brasil.), aplicados intramuscular no biceps femorais da pata direita.

### *Indução da periodontite experimental*

Foi posicionado ao redor dos primeiros molares inferiores esquerdos, um fio de algodão número 24 (Corrente Algodão n°24, Coats Corrente, São Paulo, SP, Brasil), mantido em posição subgingival por meio de nós cirúrgicos, para induzir a PE.<sup>25,26</sup>

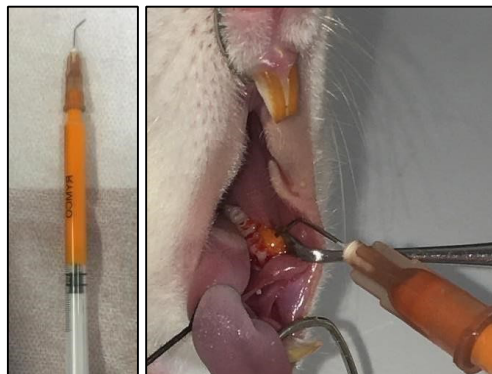
### *Raspagem e alisamento radicular*

O tratamento local com RAR foi realizado com curetas manuais mini – Five 5-6 (Hu-Friedy Co. Inc., Chicago, IL, EUA) através de 10 movimentos de tração disto-mesial nas faces vestibular e lingual. As áreas interproximais e de furca foram raspadas com as mesmas curetas através de movimentos de tração cérvico-oclusais<sup>27,28</sup>. Após realização dos movimentos de raspagem, os grupos PE-RAR, PE-RAR/S, PE-RAR/Q10S, receberam irrigação subgingival

cuidadosa com SS, enquanto os grupos PE-RAR/Q10L, PE-RAR/Q10LS receberam irrigação subgengival com solução de CQ10. Os tratamentos locais RAR foram realizados por um mesmo operador experiente e cego aos grupos experimentais.

#### *Preparo e administração da Coenzima Q10*

A solução de coenzima Q10 foi preparada utilizando glicerina vegetal como veículo. A concentração final do produto foi de 120 mg de Q10/ ml de glicerina.<sup>12,21</sup> Sendo assim, os animais dos grupos PE-RAR/Q10S e PE-RAR/Q10LS receberam, via gavagem gástrica, suplementação diária com 1ml de solução contendo 120 mg de CQ10 a partir do dia do tratamento periodontal. Os animais do grupo PE-RAR/S receberam, diariamente, 1 ml de glicerina vegetal via gavagem gástrica para simular o estresse a que os animais do grupo teste ficaram expostos. A mesma solução de 120 mg/ml de CQ10 foi utilizada para fazer irrigação subgengival após o tratamento periodontal nos grupos PE-RAR/Q10L e PE-RAR/Q10LS onde foi colocado um algodão intrabucal na região posterior da língua para impedir que os ratos deglutissem a solução, garantindo assim que o tratamento fosse apenas local.

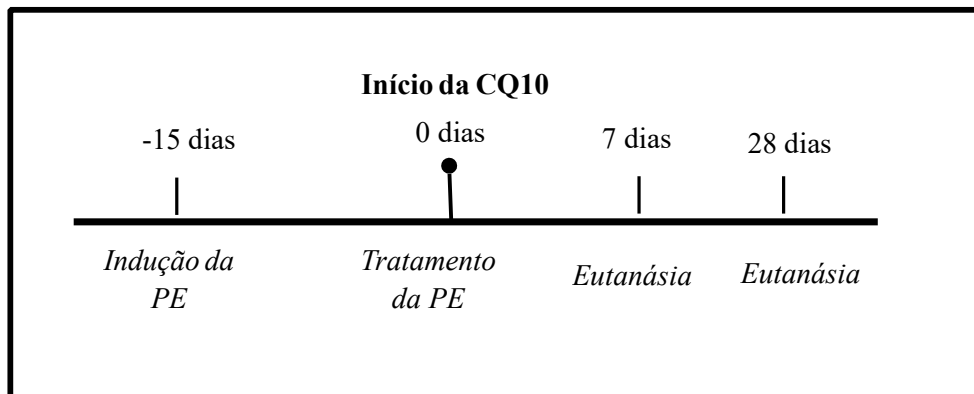


**Figura 1-** Irrigação subgengival após o tratamento periodontal nos grupos PE-RAR/Q10L e PE-RAR/Q10LS com coenzima Q10.

#### *Períodos experimentais e obtenção das amostras*

Para a realização das análises propostas, os animais foram eutanasiados pela administração de Tiopental (Cristália, Ltda., Itapira, SP, Brasil) na dose letal de 150 mg/kg de peso corporal aos 7 e 28 dias após o tratamento. A mandíbula de cada animal foi removida, separada em duas partes no plano mediano, e as hemi-mandíbulas esquerdas foram fixadas em solução de formaldeído tamponado 4% por um período de 48 horas.

### *Linha do Tempo*



**Figura 2-** Linha do tempo

### *Processamento Laboratorial*

Após fixação, as 80 amostras (08 espécimes por grupo/período) foram lavadas em água corrente e desmineralizadas em solução de EDTA 10%, com trocas semanais, por um período médio de 8 semanas. Após processamento histológico convencional e inclusão em parafina, cortes semi-seriados (4µm) foram obtidos em progressão de vestibular para lingual. Após exclusão do primeiro e do último corte histológico, nos quais a região de furca foi evidente, cinco cortes equidistantes de cada espécime foram corados com hematoxilina e eosina para análise histológica e histométrica. Outros dez cortes foram submetidos ao processamento imunoistoquímico pela técnica de imunoperoxidase indireta para detecção de Fator de necrose tumoral (TNF-  $\alpha$ ).

### *Processamento Imunoistoquímico*

Para a análise imunoistoquímica, os cortes histológicos foram desparafinizados em xilol e hidratados em série decrescente de etanol (100° - 100° - 100° - 90° - 70° GL). A recuperação antigênica foi realizada através da imersão das lâminas histológicas em tampão específico (Diva decloaker, Biocare Medical, Concord, CA, EUA), em câmara pressurizada (Decloaking chamber, Biocare Medical, Concord, CA, EUA) a 95°C, por 20 minutos. No final de cada etapa da reação imunoistoquímica, as lâminas histológicas foram lavadas em PBS 0,1 M, pH 7,4.

Posteriormente, as lâminas foram imersas em 3% de peróxido de hidrogênio por 1 hora e 1% de soro albumina bovino por 12 horas para bloqueio da peroxidase endógena e bloqueio dos sítios inespecíficos, respectivamente. As lâminas contendo amostras de cada grupo experimental foram divididas em quatro lotes, e cada lote será incubado com o anticorpo primário anti-TNF-  $\alpha$ .

Os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotilado por 2 horas e subsequentemente tratados com estreptavidina conjugada com a peroxidase da raiz forte - HRP por 1 hora (Universal Dako Labeled HRP Streptavidin-Biotin Kit, Dako Laboratories, CA, EUA). A revelação foi realizada utilizando como cromógeno o 3,3'- tetracloridrato de diaminobenzidina (DAB chromogen Kit, Dako Laboratories, CA, EUA). Foi realizada a contracoloração com hematoxilina de Harris, desidratados em etanol, diafanizados em xilol e, recobertos com meio de montagem (Permount, Fisher Scientific, San Diego, CA, EUA) e lamínulas de vidro. Como controle negativo, os espécimes foram submetidos aos procedimentos descritos anteriormente suprimindo-se a utilização do anticorpo primário.

### *Análise dos Resultados*

#### *Análise histopatológica dos tecidos periodontais*

Foi efetuada em microscopia óptica de luz avaliando-se, compreendendo os tecidos do interior da furca, os seguintes parâmetros: 1) intensidade da resposta inflamatória local; 2) reabsorção radicular externa (cimento e dentina); 3) reabsorção alveolar; 4) padrão de estruturação do tecido conjuntivo da região de furca; 5) padrão de estruturação do tecido ósseo alveolar da região de furca.

#### *Análise histométrica da POF*

Para a determinação da Porcentagem de Osso na Furca (POF) foi utilizado um sistema de análise de imagem *software* ImageJ. Foi mensurada a área total da furca (AF) e em seguida a área ocupada por osso (AO), ambas em mm<sup>2</sup>. A AF foi demarcada apicalmente por uma linha reta traçada a partir do ápice da raiz mesial em direção ao ápice da raiz distal. A partir desta linha seguiu todo o contorno da superfície externa do cimento situado entre as raízes. A AO teve o mesmo limite apical da AF e partir deste seguiu todo o contorno da superfície externa do tecido ósseo entre as raízes. Foi calculado a POF multiplicando-se AO por 100 e dividindo-se

por AF ( $POF = (AO \times 100) / AF$ ). A POF de cada espécime foi mensurada três vezes, em três dias diferentes, pelo mesmo examinador, calibrado e cego aos grupos experimentais.

### Análise imunoistoquímica

A imunomarcção foi definida como aquela de coloração castanho escuro confinada ao citoplasma e fracamente à matriz extracelular em TNF- $\alpha$ . A região de interesse (ROI) para a análise imuno-histoquímica foi uma área de 2000  $\mu\text{m}$  x 2000  $\mu\text{m}$  dentro da furca. Seu limite coronal foi a crista óssea alveolar, de onde se estenderá 2000  $\mu\text{m}$  apicalmente. Foi realizado uma análise semiquantitativa da marcação imunológica de TNF- $\alpha$ , realizada com ampliação de  $\times 400$ . A marcação imunológica foi caracterizada da seguinte forma, como descrito por Gusman et al. (2019)<sup>29</sup>:

- Escore 0: ausência de imunomarcção;
- Escore 1: baixo padrão de imunomarcção;
- Escore 2: moderado padrão de imunomarcção;
- Escore 3: alto padrão de imunomarcção.

### Análise Estatística

Os dados histométricos foram analisados usando o software BioStat ( BioStat Version 5.0, Belém, PA, Brazil). A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram analisadas através do teste Shapiro-Wilk, posteriormente, os mesmos foram submetidos ao teste paramétrico Anova: dois critério (two-way ANOVA) e pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Análise histopatológica dos tecidos periodontais

#### **Grupo PE-RAR**

Nos grupos PE-RAR, aos 7 dias, observa-se tecido conjuntivo com elevado número de polimorfonucleares, neutrófilos, em degeneração. Além de uma pequena quantidade de trabéculas ósseas pouco organizadas com reabsorções ativas em tecido ósseo, cimento e dentina. Já aos 28 dias, o tecido conjuntivo apresenta pequeno número de fibroblastos e vasos sanguíneos e fragmentos de tecido ósseo necrótico, intenso infiltrado inflamatório com área de reabsorção ativa de tecido ósseo, cimento e dentina.

#### **Grupo PE-RAR/Q10L**

Nos grupos RAR-Q10L, aos 7 e 28 dias, nota-se a presença de tecido conjuntivo bem desenvolvido com moderado número de fibroblastos e vasos sanguíneos. Tecido ósseo bem desenvolvido com áreas de formação de novo tecido ósseo e ligamento periodontal com integridade, inserido perpendicular à superfície cementária e ao tecido ósseo. Aos 28 dias observa-se reparo no cimento.

#### **Grupo PE-RAR/S**

Nos grupos PE-RAR/S, aos 7 dias, observa-se tecido conjuntivo com elevado número de polimorfonucleares, neutrófilos, em degeneração. Além de uma pequena quantidade de trabéculas ósseas pouco organizadas com reabsorções ativas em tecido ósseo, cimento e dentina. Já aos 28 dias, o tecido conjuntivo apresenta pequeno número de fibroblastos e vasos sanguíneos e fragmentos de tecido ósseo necrótico, intenso infiltrado inflamatório com área de reabsorção ativa de tecido ósseo, cimento e dentina.

#### **Grupo PE-RAR/Q10S**

Nos grupos RAR/Q10S, aos 7 e 28 dias, nota-se a presença de tecido conjuntivo bem desenvolvido com moderado número de fibroblastos e grande quantidade de vasos sanguíneos.

Tecido ósseo bem desenvolvido ocupando toda a área de furca e ligamento periodontal com integridade, inserido perpendicular à superfície cementária e ao tecido ósseo. Aos 7 dias observa-se áreas de reabsorção cementária e aos 28 dias reparo nas áreas de reabsorções nocimento.

### **Grupo RAR/Q10LS**

Nos grupos RAR-Q10/LS, aos 7 e 28 dias, nota-se ausência de processo inflamatório, ligamento periodontal com integridade, inserido perpendicular à superfície cementária e ao tecido ósseo. O tecido ósseo apresentou-se integro preenchendo toda a área de furca. Presença de inúmeros vasos sanguíneos. Além disto, áreas de reabsorções cementária apresentaram-se aos 7 dias já reparadas.

### *Análise histométrica da POF*

De acordo com os resultados estatísticos foram detectadas diferenças estatisticamente significante ( $p \leq 0,05$ ) nos intragrupos e nos intergrupos. Observou-se diferenças estatísticas nas análises intragrupos nos seguintes grupos: PE-RAR, PE-RAR/Q10L e PE-RAR/S. O grupo PE-RAR aos 28 dias ( $54,1176 \pm 8,427$ ) demonstrou menor POF em comparação aos 7 dias ( $68,0325 \pm 1,9074$ ) ( $p < 0,01$ ). O grupo PE-RAR/Q10L, aos 7 dias ( $67,781 \pm 10,4952$ ) demonstrou menor POF em comparação aos 28 dias ( $81,3277 \pm 4,093$ ) ( $p \leq 0,05$ ). O grupo PERAR/S aos 28 dias ( $56,7430 \pm 7,5640$ ) demonstrou menor POF em comparação aos 7 dias ( $66,0325 \pm 1,6974$ ) ( $p < 0,01$ ). Os demais grupos, PE-RAR/Q10S e PE-RAR/Q10LS, não apresentaram diferenças estatisticamente significante entre os períodos observados.

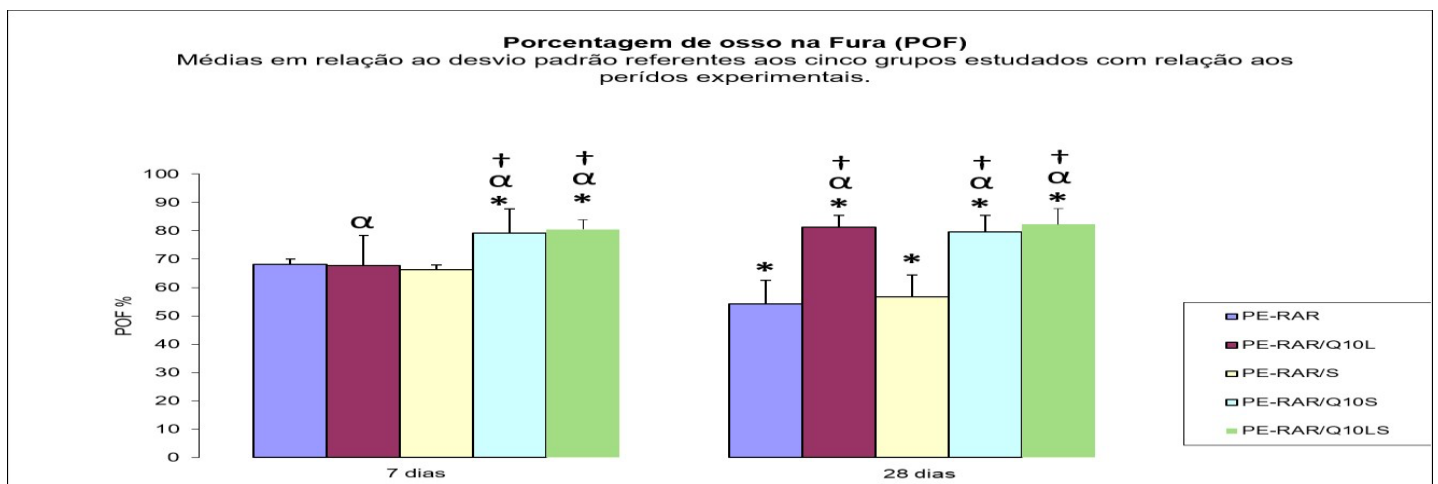
No que se refere as análises intergrupos, o grupo PE-RAR-7d ( $68,0325 \pm 1,9074$ ) ( $p < 0,01$ ) apresentou menor POF quando comparado com os grupos PE-RAR/Q10L-28d ( $81,3277 \pm 4,093$ ), PE-RAR/Q10S-7d ( $79,2214 \pm 4,0569$ ), PE-RAR/Q10S-28d ( $79,4958 \pm 5,8427$ ), PE-RAR/Q10LS-7d ( $80,4741 \pm 3,4578$ ) e PE-RAR/Q10LS-28d ( $82,2569 \pm 5,5437$ ).

Da mesma forma, o grupo PE-RAR-28d ( $54,1176 \pm 8,427$ ) ( $p < 0,01$ ) apresentou menor POF quando comparado com os grupos PE-RAR/Q10L-7d ( $67,781 \pm 10,4952$ ), PE-RAR/Q10L-28d ( $81,3277 \pm 4,093$ ), PE-RAR/Q10S-7d ( $79,2214 \pm 4,0569$ ), PE-RAR/Q10S-28d ( $79,4958 \pm 5,8427$ ), PE-RAR/Q10LS-7d ( $80,4741 \pm 3,4578$ ) e PE-RAR/Q10LS-28d ( $82,2569 \pm 5,5437$ ).

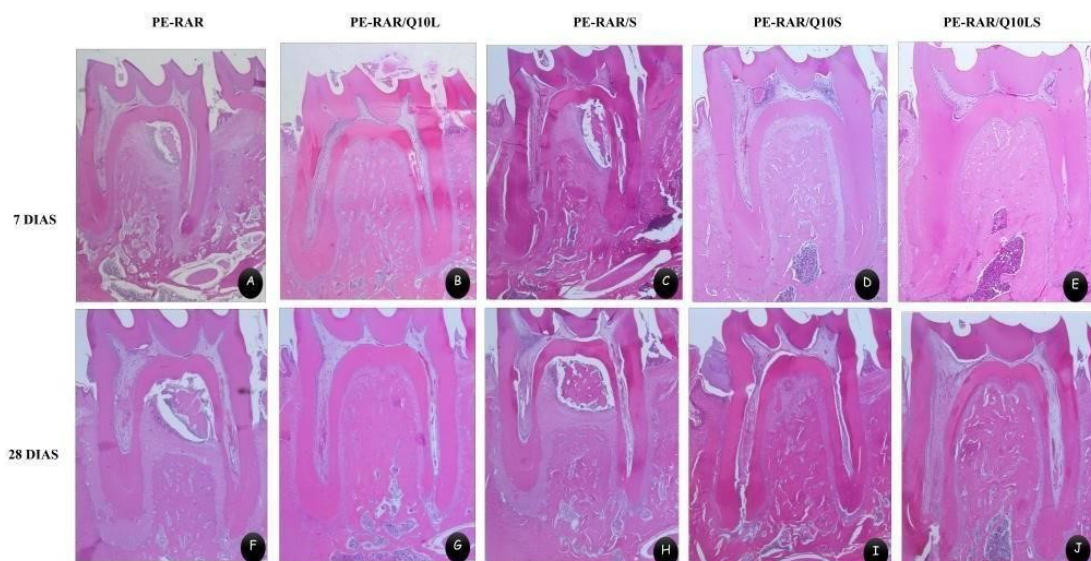
O grupo PE-RAR/Q10L-7d ( $67,781 \pm 10,4952$ ) ( $p \leq 0,05$ ) também apresentou menor POF quando comparado com os grupos PE-RAR/Q10L-28d ( $81,3277 \pm 4,093$ ), PE-RAR/Q10S-7d ( $79,2214 \pm 4,0569$ ), PE-RAR/Q10S-28d ( $79,4958 \pm 5,8427$ ), PE-RAR/Q10LS-7d ( $80,4741 \pm 3,4578$ ) e PE-RAR/Q10LS-28d ( $82,2569 \pm 5,5437$ ).

Além do mais, o grupo PE-RAR/S-7d ( $66,1976 \pm 1,6974$ ) ( $p < 0,01$ ) apresentou menor POF quando comparado com os grupos PE-RAR/Q10L-28d ( $81,3277 \pm 4,093$ ), PE-RAR/Q10S-7d ( $79,2214 \pm 4,0569$ ), PE-RAR/Q10S-28d ( $79,4958 \pm 5,8427$ ), PE-RAR/Q10LS-7d ( $80,4741 \pm 3,4578$ ) e PE-RAR/Q10LS-28d ( $82,2569 \pm 5,5437$ ).

Por fim, o grupo PE-RAR/S-28d ( $56,7430 \pm 7,5640$ ) ( $p < 0,01$ ) apresentou menor POF quando comparado com os grupos PE-RAR/Q10L-7d ( $67,781 \pm 10,4952$ ), PE-RAR/Q10L-28d ( $81,3277 \pm 4,093$ ), PE-RAR/Q10S-7d ( $79,2214 \pm 4,0569$ ), PE-RAR/Q10S-28d ( $79,4958 \pm 5,8427$ ), PE-RAR/Q10LS-7d ( $80,4741 \pm 3,4578$ ) e PE-RAR/Q10LS-28d ( $82,2569 \pm 5,5437$ ).



**Figura 3-** Gráfico mostrando a quantificação ( $M \pm DP$ ) da porcentagem de osso na furca (POF) para cada grupo e período. Testes estatísticos usados: ANOVA Two-way e pós teste de Tukey. \*, diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,01$ ) quando comparado com os grupos PE-RAR-7d e PE-RAR/S-7d; α, diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,01$ ) quando comparado com os grupos PE-RAR-28d e PE-RAR/S-28d; †, diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) quando comparado com o grupos PE-RAR/Q10L-7d.



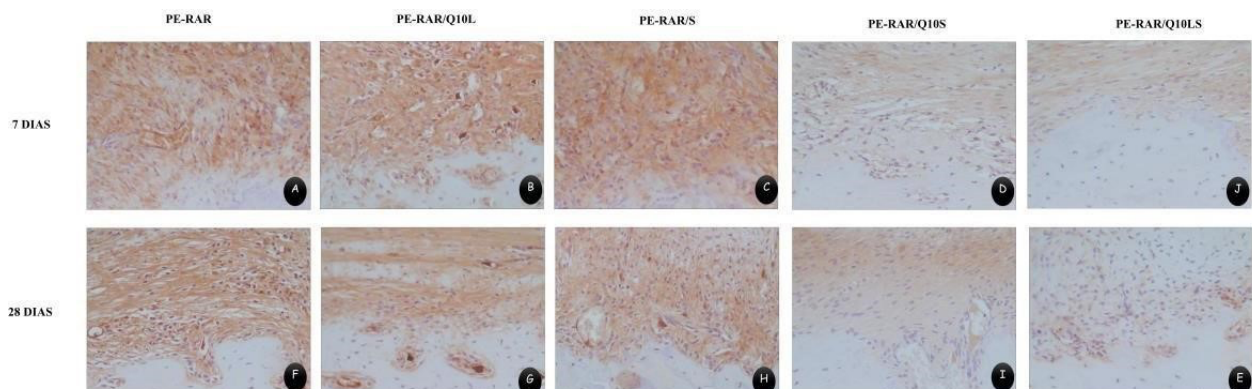
**Figura 4**– (A) PEPrancha-RAR representativa-7 dias; (B) PE dos- tecidosRAR/Q10L periodontais-7 dias; (C) PE na região-RAR/S de furca-7 dias; (D) PE dos primeiros-RAR/Q10S molares- 7 dias; (E) PE- RAR/Q10LS-7 dias; (F) PE-RAR-28 dias; (G) PE-RAR/Q10L-28 dias; (H) PE-RAR/S-28 dias; (I) PE- RAR/Q10S-28 dias; (J) PE- RAR/Q10LS-28 dias. Aumento de 2,5  $\mu$ m.

### Análise imunoistoquímica

Foi realizado uma análise semiquantitativa, por escores, de acordo com a marcação imunológica descrita por Gusman et al. (2019)<sup>9</sup>, que compreende os escores: escore 0: ausência de imunomarcacão; 1: baixo padrão de imunomarcacão; 2: moderado padrão de imunomarcacão; 3: alto padrão de imunomarcacão (tabela 2). Posteriormente à quantificação dos escores, foi realizado a prevalência dos mesmos em cada grupo.

Diante da análise empregada, pode-se observar no grupo PE-RAR-7d uma porcentagem de 75% para o escore 3 e 25% para o escore 2. Já aos 28 dias, o grupo PE-RAR, apresentou 100% de prevalência do escore 2. O grupo PE-RAR/Q10L-7d demonstrou 100% de prevalência de escores 2, no entanto aos 28 dias apresentou 62,5% de prevalência de escore 2 e 37,5% de escore 1.

O grupo PE-RAR/S-7d apresentou uma prevalência de 75% para o escore 3 e 25% para o escore 2, já aos 28 dias apresentou 100% de prevalência do escore 2. O grupo PE- RAR/Q10S-7d demonstrou 100% de prevalência de escores 2, já aos 28 dias apresentou 62,5% de prevalência para o escore 1 e 37,5% de prevalência para o escore 2. Por fim, o grupo PE- RAR/Q10LS-7d apresentou 50% de escores 1 e 50% de escores 2, já aos 28 dias apresentou 100% de escores 1.



**Figura 5**– Prancha representativa da marcação imunoistoquímica para TNF-  $\alpha$  nos tecidos periodontais na região de furca dos primeiros molares inferiores. (A) PE-RAR-7 dias; (B) PE-RAR/Q10L-7 dias; (C) PE-RAR/S-7 dias; (D)PERAR/Q10S-7 dias; (E) PE-RAR/Q10LS-7 dias; (F) PE-RAR-28 dias; (G) PE-RAR/Q10L-28 dias; (H) PE-RAR/S-28 dias; (I) PE-RAR/Q10S-28 dias; (J) PE-RAR/Q10LS-28 dias. Aumento de 40  $\mu$ m.

**Tabela 2**- Tabela com os escores de imunomarcação para TNF- $\alpha$  para os grupos experimentais e períodos.

| TNF- $\alpha$    |         |   |   |   |   |   |   |   |
|------------------|---------|---|---|---|---|---|---|---|
| GRUPOS           | ESCORES |   |   |   |   |   |   |   |
| PE-RAR-7D        | 3       | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| PE-RAR/Q10L-7D   | 2       | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| PE-RAR/S-7D      | 3       | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| PE-RAR/Q10S-7D   | 2       | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| PE-RAR/Q10LS-7D  | 1       | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| PE-RAR-28D       | 2       | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| PE-RAR/Q10L-28D  | 2       | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| PE-RAR/S-28D     | 2       | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| PE-RAR/Q10S-28D  | 1       | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| PE-RAR/Q10LS-28D | 1       | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pelo presente estudo contribuem para complementar as informações disponíveis na literatura a respeito do tratamento periodontal<sup>25,27,29,30,31,32</sup>. Sabe-se que regiões de difícil acesso para raspagem e alisamento radicular, como as furcas dentárias, requerem de terapias coadjuvantes para melhor eficácia e sucesso do tratamento periodontal<sup>1316</sup>. Os achados do estudo em questão corroboram com estas informações da literatura, onde pode-se observar nos grupos PE-RAR e PE-RAR/S aos 28 dias uma menor POF comparada com o grupo PE-RAR e PE-RAR/S aos 7 dias, reforçando assim a progressão da periodontite mesmo após a RAR. De modo coerente, os resultados obtidos na análise histopatológica demonstraram que ambos os grupos aos 28 dias, PE-RAR e PE-RAR/S, demonstraram um tecido conjuntivo com pequeno número de fibroblastos e vasos sanguíneos e fragmentos de tecido ósseo necrótico, intenso infiltrado inflamatório com área de reabsorção ativa de tecido ósseo, cemento e dentina. Da mesma forma, na análise imunoistoquímica os grupos PE-RAR e PE-RAR/S apresentaram uma maior porcentagem de escores para TNF- $\alpha$  de alto à moderado aos 7 dias, permanecendo com escore de moderado aos 28 dias.

Algumas terapias coadjuvantes e profiláticas podem ser associadas à RAR, como o uso de antioxidantes, mostrando efeitos positivos no tratamento da gengivite e periodontite<sup>3,17</sup>

Mathena et al. (2015), demonstraram que a suplementação por via oral da CQ10 obteve melhoras significativas na inflamação gengival.<sup>3</sup> Além da administração sistêmica da CQ10, pode-se realizar a aplicação tópica nas bolsas periodontais, como alguns autores demonstram e evidenciam respostas favoráveis para o tratamento em pacientes com periodontite. Nos estudos anteriores foram avaliados parâmetros clínicos como índice de placa, profundidade de sondagem, sangramento, nível gengival e nível de inserção clínica durante períodos de acompanhamento<sup>12,21,22</sup>. Apesar dos estudos mostrarem melhoras na inflamação gengival e resultados benéficos no tratamento periodontal com o uso da CQ10, pouco se sabe da sua ação específica sobre os tecidos periodontais.

Os resultados encontrados no presente projeto demonstraram uma resultado favorável na utilização da CQ10 como coadjuvantes à RAR, tanto de modo sistêmico, local ou ambos. Podese

observar que em ambos os grupos PE-RAR/Q10L, PE-RAR/Q10S e PE-RAR/Q10LS apresentaram uma maior POF aos 28 dias, bem como características histopatológicas mais favoráveis como moderado número de fibroblastos e grande quantidade de vasos sanguíneos. Tecido ósseo bem desenvolvido ocupando toda a área de furca e ligamento periodontal com integridade, inserido perpendicular à superfície cementária e ao tecido ósseo, além de um escore de pouca imunomarcção para TNF- $\alpha$ . Ademais, vale ressaltar, que ao combinar a terapia sistêmica e local no grupo PE-RAR/Q10LS, os achados demonstraram aos 7 e 28 dias ausência de processo inflamatório, ligamento periodontal com integridade, inserido perpendicular à superfície cementária e ao tecido ósseo. O tecido ósseo apresentou-se integro preenchendo toda a área de furca e presença de inúmeros vasos sanguíneos. Além do mais na análise histométrica representaram os grupos com maior POF, tanto aos 7 como aos 28 dias. Ao encontro de tais resultados a análise imunoistoquímica do grupo em questão apresentou a maior porcentagem de escores de pouca imunomarcção para TNF- $\alpha$ .

## **CONCLUSÃO**

Conclui-se que a Coenzima Q10 administrada localmente e/ou sistemicamente coadjuvante à raspagem e alisamento radicular se apresentou eficaz e segura no tratamento da periodontite experimental induzida em ratos.

## REFERÊNCIAS

1. Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):54-64.
2. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014 Nov;93(11):1045-53.
3. Ebisu S, Noiri Y. [Oral Biofilms and bone resorption]. *Clin Calcium*. 2007 Feb;17(2):179-84.
4. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and periimplant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S1-S8. doi:10.1002/JPER.18-0157.
5. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*. 2010 Nov;89(11):1241-6.
6. Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, Akalın FA. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol*. 2014 Oct;85(10):1432-41.
7. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*. 2007;43:160-232.
8. Miyasaki KT. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol*. 1991 Dec;62(12):761-74.
9. Gustafsson A, Ito H, Asman B, Bergström K. Hyper-reactive mononuclear cells and neutrophils in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2006 Feb;33(2):126-9.
10. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol*. 1993 Apr;64(4):243-53.
11. Chandra RV, Srinivas G, Reddy AA, Reddy BH, Reddy C, Nagarajan S, Naveen A. Locally delivered antioxidant gel as an adjunct to nonsurgical therapy improves measures of oxidative stress and periodontal disease. *J Periodontal Implant Sci*. 2013 Jun;43(3):121-9. doi: 10.5051/jpis.2013.43.3.121. Epub 2013 Jun 30.
12. Manthena S, Rao MV, Penubolu LP, Putcha M, Harsha AV. Effectiveness of CoQ10 Oral Supplements as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Improving Periodontal Health. *J Clin Diagn Res*. 2015 Aug;9(8):ZC26-8. doi:10.7860/JCDR/2015/13486.6291. Epub 2015 Aug 1.

13. Martin SF, Burón I, Espinosa JC, Castilla J, Villalba JM, Torres JM. Coenzyme Q and protein/lipid oxidation in a BSE-infected transgenic mouse model. *Free Radic Biol Med*. 2007 Jun 1;42(11):1723-9. Epub 2007 Mar 15.
14. Hernández-Camacho JD, Bernier M, López-Lluch G, Navas P. Coenzyme Q(10)Supplementation in Aging and Disease. *Front Physiol*. 2018 Feb 5;9:44. doi:10.3389/fphys.2018.00044. eCollection 2018.
15. Nakamura R, Littarru GP, Folkers K, Wilkinson EG. Deficiency of coenzyme Q in gingiva of patients with periodontal disease. *Int J Vitam Nutr Res*.1973;43(1):84-92.
16. Nakamura R, Littarru GP, Folkers K, Wilkinson EG. Study of CoQ10-enzymes in gingiva from patients with periodontal disease and evidence for a deficiency of coenzyme Q10. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1974 Apr;71(4):1456-60.
17. Gaby AR. Nutritional treatments for acute myocardial infarction. *Altern Med Rev*. 2010 Jul;15(2):113-23.
18. Hansen IL, Iwamoto Y, Kishi T, Folkers K, Thompson LE. Bioenergetics in clinical medicine. IX. Gingival and leucocytic deficiencies of coenzyme Q10 in patients with periodontal disease. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 197 Aug;14(4):729-38.
19. Al-Hasso Shahla. Coenzyme Q10: a review. *Hosp Pharm*. 2000;35:51–55.
20. Hornos Carneiro MF, Shin N, Karthikraj R, Barbosa F Jr, Kannan K, Colaiácovo MP. Antioxidant CoQ10 Restores Fertility by Rescuing Bisphenol A-Induced Oxidative DNA Damage in the *Caenorhabditis elegans* Germline. *Genetics*. 2020Feb;214(2):381-395.
21. Raut CP, Sethi KS, Kohale B, Mamajiwala A, Warang A. Subgingivally delivered coenzyme Q10 in the treatment of chronic periodontitis among smokers: A randomized, controlled clinical study. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2019 Apr-Jun;9(2):204-208. doi: 10.1016/j.jobcr.2018.05.005. Epub 2018 May 9.
22. Raut CP, Sethi KS. Comparative evaluation of co-enzyme Q10 and *Melaleuca alternifolia* as antioxidant gels in treatment of chronic periodontitis: A clinical study. *Contemp Clin Dent*. 2016 Jul-Sep;7(3):377-81. doi:10.4103/0976-237X.188572.
23. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010 Jun 29;8(6):e1000412.
24. NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. 2010. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. *J Physiol*. 588(pt 14) 2519–2521.

25. de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. *J Periodontol.* 2008 Jun;79(6):1081-8.
26. Johnson IH. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J Periodontal Res.* 1975 Dec;10(6):332-45.
27. de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2007 Mar;78(3):566-75.
28. De Almeida J, Ervolino E, Bonfietti LH, Novaes VC, Theodoro LH, Fernandes LA, Martins TM, Faleiros PL, Garcia VG. Adjuvant Therapy With Sodium Alendronate for the Treatment of Experimental Periodontitis in Rats. *J Periodontol.* 2015 Oct;86(10):1166-75. doi: 10.1902/jop.2015.150166.
29. Gusman DJR, Ervolino E, Theodoro LH, Garcia VG, Nagata MJH, Alves BES, de Araujo NJ, Matheus HR, de Almeida JM. Antineoplastic agents exacerbate periodontal inflammation and aggravate experimental periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2019 Apr;46(4):457-469.
30. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol.* 1993 Apr;64(4):243-53.
31. Garcia VG, Novaes VC, de Almeida JM, Longo M, Ervolino E, Bomfim SR, Theodoro LH. Evaluation of the progression and treatment of experimental periodontitis in rats subjected to chemotherapy with 5-fluorouracil. *Support Care Cancer.* 2015 Jul;23(7):2007-17.
32. de Almeida JM, Marques BM, Novaes VCN, de Oliveira FLP, Matheus HR, Fiorin LG, Ervolino E. Influence of adjuvant therapy with green tea extract in the treatment of experimental periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2019 Jun;102:65-73.

## ANEXO



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**

**CAMPUS ARAÇATUBA**  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals**

### **CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Avaliação dos efeitos da coenzima Q10 utilizada como coadjuvante local e/ou sistêmica ao tratamento mecânico da periodontite experimental em ratos tratados com nicotina", Processo FOA nº 00302-2020, sob responsabilidade de Juliano Milanezi de Almeida apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 02 de Outubro de 2020.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 02 de Outubro de 2024.**

**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 02 de Novembro de 2024.**

### **CERTIFICATE**

We certify that the study entitled "Evaluation of the effects of coenzyme Q10 as local and/or systemic adjuvant to mechanical treatment of experimental periodontitis in rats treated with nicotine", Protocol FOA nº 00302-2020, under the supervision of Juliano Milanezi de Almeida presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on October 02, 2020.

**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: October 02, 2024.**

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: November 02, 2024.**

**Prof. Associado Guilherme de Paula Nogueira**  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator

