

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 18/12/2025.



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

GLAUCO RODRIGUES CARMO SILVEIRA

**Nanopartículas lipídicas contendo própolis verde como
terapia adjuvante à raspagem e alisamento radicular na
periodontite em ratas ovariectomizadas tratadas ou não com
zoledronato**

Araçatuba- SP
2023

GLAUCO RODRIGUES CARMO SILVEIRA

**Nanopartículas lipídicas contendo própolis verde como
terapia adjuvante à raspagem e alisamento radicular na
periodontite em ratas ovariectomizadas tratadas ou não com
zoledronato**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (Unesp), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia (Área de Periodontia).

Orientador: Prof. Assoc. Edilson Ervolino

Araçatuba - SP
2023

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S587n Silveira, Glauco Rodrigues Carmo.
Nanopartículas lipídicas contendo própolis verde como terapia adjuvante à raspagem e alisamento radicular na periodontite em ratas ovariectomizadas tratadas ou não com zoledronato / Glauco Rodrigues Carmo Silveira. – Araçatuba, 2023
70 f. : 10 il. ; 2 tab.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Edilson Ervolino

1. Ovariectomia 2. Própole 3. Periodontite 4. Ácido zoledrônico I.T.

Black D6
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Júlio Mesquita Filho (UNESP)**, onde, tive a oportunidade de crescimento acadêmico durante o programa de pós-graduação em odontologia.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** - Código de Financiamento 001, pela concessão de bolsa de estudos.

Aos **docentes**, Edilson Ervolino, Mariza Akemi Matsumoto, Leonardo Perez Faverani, Valdir Gouvea Garcia, Letícia Helena Theodoro, Roberta Okamoto, Juliano Milanezi de Almeida, André Luis Fabris, Leandro Araújo Fernandes, Noé Vital Ribeiro Júnior, João Adolfo Costa Hanemann, Suzane Cristina Pigossi, Renata Ribeiro Bruzadelli, Larissa Santana Rodriguez, Máisa Ribeiro Pereira Lima Brigagão, Francisca Isabel Ruela, Juliana dos Santos Neves, Daniela Coelho de Lima, Ronaldo Célio Mariano, Alessandro Aparecido Pereira, André Gustavo Paleari, Marcela Filié Haddad, Vivien Thiemy Sakai, pelos ensinamentos e oportunidades durante este período.

Ao meu orientador, **Edilson Ervolino**, pelo grande profissional e ser humano que é, com seriedade, competência e leveza se empenhou para que este trabalho fosse realizado da melhor forma possível, por todo o seu auxílio durante a pesquisa e também pelos ensinamentos nas etapas laboratoriais, através da sua orientação pude crescer como profissional e ser humano, muito obrigado.

À **Faculdade Federal de Alfenas**, agradeço pelas portas que me abriu e pelo meu crescimento durante a graduação e durante o mestrado.

Aos alunos de iniciação científica que contribuíram diretamente para a realização deste trabalho, **André, Arthur, Estevão, João Victor, Leandro, Yasmin, Rodrigo, Murilo**.

Aos colegas de pós-graduação, **Eduardo Quintão Manhanini, João Paulo Soares Franciscon, Luan Felipe Toro, Vinícius Ganzaroli, Jéssica Freire e Isabela Zacarin Guiati**, pelo apoio e bom convívio durante toda a minha trajetória até aqui.

Aos meus pais, **Ronaldo do Carmo Silveira e Ângela Maria Rodrigues Silveira**, pelo amor incondicional e por não medirem esforços para que eu pudesse trilhar este caminho profissional.

Às minhas irmãs, **Gracielle Silveira Piccirillo** e **Nayara Rodrigues Carmo Silveira** e à minha afilhada, **Alice Silveira Piccirillo**, e a todos os familiares que sempre torceram pelo meu crescimento.

Em memória de meus avós, **José Carlos da Silveira e Geralda do Carmo Silveira**, pelos quais sempre tive grande admiração.

Com certeza não pude lembrar de todos que contribuíram para a realização deste trabalho e que deveriam estar nesta lista de agradecimentos, mas agradeço imensamente a todos.

Por fim, agradeço a **Deus**, pela dádiva da vida e por me guiar em meus caminhos até aqui.

Muito obrigado.

SILVEIRA, G. R. C. **Nanopartículas lipídicas contendo própolis verde como terapia adjuvante à raspagem e alisamento radicular na periodontite em ratas ovariectomizadas tratadas ou não com zoledronato**. 2023. 70 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do uso local de nanopartículas lipídicas contendo própolis verde como terapia adjuvante à raspagem e alisamento radicular (RAR) no tratamento da periodontite experimental (PE) em ratas ovariectomizadas, tratadas ou não com alta dosagem de zoledronato. Setenta ratas (6 meses) Wistar foram utilizadas neste estudo. Dez semanas antes do início dos experimentos as ratas foram submetidas à ovariectomia bilateral. No dia 0 foi instalada uma ligadura de algodão ao redor do primeiro molar inferior para que o acúmulo de biofilme induzisse a PE. A partir deste procedimento seguiram-se os experimentos 1 e 2. No experimento 1, após duas semanas da instalação da ligadura as ratas foram distribuídas nos grupos: NTL (n=10), RAR (n=10), RAR-PVext (n=10) e RAR-PVnpl (n=10). No grupo NTL não foi efetuado nenhum tratamento local. No grupo RAR foi realizada a RAR e irrigação com solução salina fisiológica. Nos grupos RAR-PVext e RAR-PVnpl foi realizada RAR e irrigação com extrato de própolis verde e nanopartículas lipídicas contendo própolis verde, respectivamente. No experimento 2, da 1ª até a 6ª semana foi efetuado o tratamento com zoledronato (100µg/Kg), a cada quatro dias, pela via intraperitoneal. Após duas semanas da permanência da ligadura ela foi removida e as ratas foram distribuídas nos grupos: ZOL-NTL (n=10), ZOL-RAR (n=10) e ZOL-RAR-PVnpl (n=10). No grupo ZOL-NTL não foi efetuado nenhum tratamento local. No grupo ZOL-RAR foi realizada a RAR e irrigação com solução salina fisiológica. No grupo ZOL-RAR-PVnpl foi realizada RAR e irrigação com nanopartículas lipídicas contendo própolis verde. Tanto no experimento 1 quanto no experimento 2 foi efetuada uma única sessão de RAR e quatro sessões de irrigação com as soluções citadas acima, ou seja, imediatamente após a RAR e após 2, 4 e 6 dias deste procedimento. As ratas foram submetidas à eutanásia 28 dias após a remoção da ligadura. No experimento 1 as hemimandíbulas foram processadas para permitir: análise histológica do processo de reparação dos tecidos periodontais, análise histométrica da porcentagem de tecido ósseo na região de furca (PTOF) e análise imunistoquímica para detecção de TRAP e OCN. No experimento 2 as hemimandíbulas foram processadas para permitir: análise

microtomográfica da microarquitetura óssea, análise histológica do processo de reparação dos tecidos periodontais, análise histométrica da porcentagem de tecido ósseo na região de furca (PTOF) e da porcentagem de tecido ósseo não vital na região de furca (PTONV) e análise imunoistoquímica para detecção de $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ e TRAP. Em RAR-PVnpl a reparação dos tecidos periodontais pós tratamento foi melhor que nos demais grupos, a PTOF e a imunomarcção para OCN foram maiores que nos demais grupos experimentais. ZOL-RAR-PVnpl apresentou uma reparação dos tecidos periodontais pós-tratamento mais satisfatória, menor PTONV e menor imunomarcção para $TNF\alpha$ e $IL-1\beta$ em relação aos demais grupos. Conclui-se que a irrigação com nanopartículas lipídicas contendo própolis verde se constituiu em uma terapia adjuvante à RAR efetiva e segura no tratamento da periodontite experimental em ratas ovariectomizadas, tratadas ou não com dosagem oncológica de zoledronato.

Palavras-chave: Nanopartículas; Ovariectomia; Própolis; Periodontite; Zoledronato; Rato.

SILVEIRA, G. R. C. **Lipid nanoparticles containing green propolis as adjuvant therapy to scaling and root planing in periodontitis in ovariectomized rats treated or not with zoledronate.** 2023. 70 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the effect of local use of lipid nanoparticles containing green propolis as an adjuvant therapy to scaling and root planing (SRP) in the treatment of experimental periodontitis (EP) in ovariectomized rats, treated or not, with a high dose of zoledronate. Seventy female Wistar rats (6 months) were used in this study. Ten weeks before the start of the experiments, the rats underwent bilateral ovariectomy. On day 0, a cotton ligature was installed around the lower first molar so that biofilm accumulation would induce PE. From this procedure, experiments 1 and 2 followed. In experiment 1, after two weeks of ligature placement, the rats were distributed into the following groups: NLT (n=10), SRP (n=10), SRP-GPext (n =10) and SRP-GPlnp (n=10). In the NLT group, no local treatment was performed. In the SRP group, SRP and irrigation with physiological saline solution were performed. In the SRP-GPext and SRP-GPlnp groups, SRP and irrigation with green propolis extract and lipid nanoparticles containing green propolis were performed, respectively. In experiment 2, from the 1st to the 6th week, treatment with zoledronate (100µg/Kg) was carried out every four days, intraperitoneally. Two weeks after the ligature remained in place, it was removed and the rats were distributed into the groups: ZOL-NLT (n=10), ZOL-SRP (n=10) and ZOL-SRP-GPlnp (n=10). In the ZOL-NLT group, no local treatment was performed. In the ZOL-SRP group, SRP and irrigation with physiological saline were performed. In the ZOL-SRP-GPlnp group, SRP and irrigation with lipid nanoparticles containing green propolis were performed. In both experiments 1 and 2, a single SRP session and four irrigation sessions were carried out with the solutions mentioned above, that is, immediately after SRP and after 2, 4 and 6 days of this procedure. The rats were euthanized 28 days after removing the ligature. In experiment 1, the hemimandibles were processed to allow: histological analysis of the periodontal tissue repair process, histometric analysis of the percentage of bone tissue in the furcation region (PBTF) and immunohistochemical analysis for detection of TRAP and OCN. In experiment 2, the hemimandibles were processed to allow: microtomographic analysis of the bone microarchitecture, histological analysis of the periodontal tissue repair process, histometric analysis of the percentage of bone tissue in the furcation region (PBTF) and the

percentage of non-vital bone tissue in the region furcation (PNVBT) and immunohistochemical analysis for detection of TNF α , IL-1 β and TRAP. In SRP-GPlnp, periodontal tissue repair after treatment was better than in the other groups, PBTf and immunolabeling for OCN were higher in the other experimental groups. ZOL-SRP-GPlnp showed a more satisfactory post-treatment periodontal tissue repair, lower PNVBT and lower immunolabeling for TNF α and IL-1 β compared to the other groups. It is concluded that irrigation with lipid nanoparticles containing green propolis constituted an effective and safe adjuvant therapy to SRP in the treatment of experimental periodontitis in ovariectomized rats, treated or not, with oncological dosage of zoledronate.

Keywords: Nanoparticles; Ovariectomy; Propolis; Periodontitis; Zoledronate; Rat.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 – Delineamento experimental e principais procedimentos operatórios.....	33
Figura 2 – Caracterização das nanopartículas lipídicas contendo própolis verde.....	34
Figura 3 – Tecido ósseo na região de furca do primeiro molar inferior.....	35
Figura 4 – Imunomarcção para TRAP da região de furca do primeiro molar inferior.....	36
Figura 5 – Imunomarcção para OCN da região de furca do primeiro molar inferior.....	37

Capítulo 2

Figura 1 – Delineamento experimental e principais procedimentos operatórios.....	63
Figura 2 – Aspecto microtomográfico do periodonto de inserção relacionado com o primeiro molar inferior.....	64
Figura 3 – Tecido ósseo na região de furca do primeiro molar inferior.....	65
Figura 4 – Imunomarcção para TNF α e IL-1 β da região de furca do primeiro molar inferior.....	66
Figura 5 – Imunomarcção para TRAP da região de furca do primeiro molar inferior.....	67

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 – Parâmetros, escores e distribuição dos espécie de acordo com a análise histopatológica dos tecidos periodontais na região de furca do primeiro molar inferior nos diferentes grupos PE-NTL, PE-RAR e PE-RAR-NEPV.....	38
--	----

Capítulo 2

Tabela 1 – Parâmetros, escores e distribuição dos espécie de acordo com a análise histopatológica dos tecidos periodontais na região de furca do primeiro molar inferior nos diferentes grupos ZOL-NTL, ZOL-RAR E ZOL-RAR-PVnpl.....	68
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
Art-C	Artepelina C
ATF	Área Total da Furca
ATO	Área Ocupada por Tecido Ósseo
DA	Drogas antireabsortivas
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Eficiência de encapsulamento
FOA-UNESP	Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
HE	Hematoxilina-eosina
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IL-1 β	Interleucina-1 beta
KCL	Cloreto de potássio
NEPV	Nanoemulsão de própolis verde
OCN	Osteocalcina
ONMM	Osteonecrose dos maxilares associada à terapia medicamentosa
PBS	Tampão fosfato-salino
PdI	Índice de polidispersão
PE	Periodontite experimental
PGE2	Prostaglandina E2
POA	Nível de perda óssea alveolar
PTOF	Porcentagem de tecido ósseo na região de furca
PTONV	Porcentagem de tecido ósseo não vital na região de furca
RANK	Receptor ativador do fator nuclear Kappa Beta
RANKL	Receptor ativador do fator nuclear Kappa Beta ligante
RAR	Raspagem e alisamento radicular
Tb.N	Número de trabéculas no tecido ósseo da região de furca
Tb.th	Espessura de trabéculas no tecido ósseo na região de furca
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
VEI-NTL	Grupo veículo sem tratamento local
VEI-PVext	Grupo veículo com RAR e irrigação com extrato de própolis
VEI-PVnpl	Grupo veículo com RAR e irrigação com PVnpl
VEI-RAR	Grupo veículo com RAR
ZOL-NTL	Grupo zoledronato sem tratamento local
ZOL-PVnpl	Grupo zoledronato com RAR e irrigação com PVnpl
ZOL-RAR	Grupo zoledronato com RAR

SUMÁRIO

Capítulo 1

PÁGINA DE TÍTULO.....	12
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

Capítulo 2

PÁGINA DE TÍTULO.....	39
INTRODUÇÃO.....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
RESULTADOS.....	52
DISCUSSÃO.....	54
CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	59
ANEXO A.....	69
ANEXO B.....	70