



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

Layra Gabrielly Bueno Garcia

**Avaliação dos efeitos da suplementação oral com
Biotina na progressão e tratamento da periodontite
experimental**

Araçatuba - SP
2026

Layra Gabrielly Bueno Garcia

**Avaliação dos efeitos da suplementação oral com
Biotina na progressão e tratamento da periodontite
experimental**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, para obtenção
do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador(a): Prof. Dr. Juliano
Milanezi de Almeida

Araçatuba - SP
2026

Dedico este trabalho em memória do meu avô, Silvio que permanece eternamente presente em minha vida. E a minha família, que caminhou debaixo de muito sol para que eu chegasse até aqui pela sombra desta conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ser minha força quando as minhas já não eram suficientes, por me sustentar nos dias de cansaço extremo e por nunca me abandonar quando o caminho parecia longo demais. Foi Ele quem me levantou nas quedas silenciosas, quem me deu coragem quando o medo tentou me paralisar e quem colocou paz no meu coração mesmo em meio às tempestades. Agradeço a Deus por me conceder a oportunidade de estar aqui e por confiar a mim esta profissão, que carrego com responsabilidade, amor e propósito. Cada aprendizado, cada desafio e cada conquista foram possíveis porque Ele esteve presente, guiando minhas escolhas e fortalecendo minha fé. Nada foi por acaso. Cada passo desta trajetória carrega o cuidado e amor de Deus.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa que fez com que a realização deste trabalho de conclusão de curso fosse possível (processo 2024-8/16956).

Agradeço também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2025/04282-8, que fez possível a realização do meu segundo projeto de pesquisa desenvolvido durante a graduação.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP, na pessoa do Diretor, Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Dalbem, e de seu Vice-Diretor, Prof. Luciano Tavares Ângelo Cintra. À FOA, que foi minha segunda casa ao longo desses cinco anos, expresso minha profunda gratidão pela sólida formação oferecida e mais do que formação técnica, aqui foi onde construí valores e amadureci como pessoa, e graças a isso me tornei a profissional e pessoa que sou hoje.

Agradeço a todos os professores da faculdade, que sempre terão minha profunda admiração. Sou imensamente grata por terem compartilhado comigo não apenas seus conhecimentos técnicos tão valiosos, mas também suas experiências e valores. A profissional que hoje me torno foi construída por cada um de vocês.

Agradeço a todos funcionários da faculdade, profissionais da esterilização, limpeza, biblioteca, manutenção, aos técnicos de laboratório, aos colaboradores do

biotério e ao pessoal da CDMAC. Muito além de suas funções, vocês foram presenças constantes que tornaram o caminho leve e se tornaram pessoas fundamentais da história que construí nesta instituição.

Não poderia deixar de expressar minha mais sincera e profunda gratidão ao meu orientador, **Prof. Dr. Juliano Milanezi de Almeida**, que foi muito além de um grande professor durante toda esta trajetória. Obrigada por cada ensinamento compartilhado, por cada oportunidade, pela paciência, confiança e, principalmente, por acreditar em mim e no meu potencial. O senhor é um profissional brilhante e extremamente admirável, alguém que se destaca não apenas pelo vasto conhecimento científico e excelência clínica, mas também pela seriedade, competência e paixão com que exerce a odontologia e o ensino. Sua dedicação à formação de alunos, ao cuidado com os pacientes e à busca constante pela excelência fazem do senhor uma grande referência profissional e acadêmica. Tenho imenso orgulho e privilégio de aprender com alguém tão capacitado, ético e inspirador, grande parte da minha formação profissional e pessoal foi construída através da sua influência, dos seus conselhos e do exemplo que sempre foi para mim. Tive o privilégio de encontrar não apenas um orientador extraordinário, mas também um amigo, que levarei com muito carinho para a minha vida. Agradeço também, com muito carinho, à sua família — Fernanda, Alice e Gabriel — que sempre me receberam com muito carinho.

Gostaria de agradecer ao **Prof. Dr. Francisley Ávila Souza**, por compor a minha banca e por todos os ensinamentos ao longo da graduação. A Cirurgia foi uma das disciplinas que mais gostei, e grande parte disso veio da admiração que desenvolvi pela forma como o senhor conduz a profissão e transmite seu conhecimento. Sempre admirei suas condutas clínicas e a maneira humana e respeitosa com que trata os pacientes. Seu profissionalismo e dedicação são verdadeiramente inspiradores. Além disso, também admiro a alegria e leveza que transmite a todos ao redor. Obrigada por todos os ensinamentos e exemplos que levarei para a vida.

Ao **Me. Ruan Henrique Delmonica Barra**, agradeço não apenas por compor minha banca examinadora, mas por toda a imensa ajuda, ensinamentos e apoio que me proporciona diariamente, deixo aqui minha mais sincera gratidão. Obrigada por toda paciência, dedicação, confiança e por estar sempre disposto a me orientar de

forma tão exemplar. Sua presença nesta caminhada fez toda a diferença, não somente pelos inúmeros conhecimentos compartilhados, mas também pela amizade, apoio e segurança que sempre me transmitiu. Mais do que um grande mestre, tornou-se também um grande amigo, alguém que admiro profundamente e por quem tenho enorme carinho. Sou imensamente grata por poder contar com uma pessoa tão incrível e inspiradora em minha trajetória. Levarei comigo todos os ensinamentos, o carinho, a admiração e a gratidão que sinto por você.

Ao **Prof. Dr. Luiz Guilherme Fiorin**, gostaria de agradecer profundamente por ter sido muito mais do que um professor e orientador, obrigada pela amizade, pelos ensinamentos, pela confiança e por acreditar em mim desde o início. Sou eternamente grata pela primeira oportunidade que me deu, pois ela abriu portas e teve um papel fundamental na profissional e pessoa que estou me tornando hoje. Ter alguém que acreditasse no meu potencial fez toda a diferença na minha caminhada. Obrigada por ser esse profissional incrível que tenho profunda admiração, a qual vai muito além da vida acadêmica. Sua presença marcou minha trajetória de uma forma especial, e levarei comigo, para sempre, todo carinho e gratidão que sinto.

Aos **pós-graduandos Ester, Gabriela, Otávio e Elisa**, deixo aqui toda minha gratidão e carinho. Vocês se tornaram grandes amigos e pessoas extremamente especiais na minha vida. Todos os dias me inspiro em cada um de vocês, não apenas pela dedicação e excelência na caminhada acadêmica, mas também pelas pessoas incríveis que são. São grandes exemplos para mim. Muito obrigada por estarem sempre ao meu lado, por toda ajuda, apoio, conselhos, risadas e por tornarem essa trajetória mais leve e especial. Sou muito grata pela amizade e por toda ajuda. Aos meus **amigos da iniciação científica, Anne, Beatriz, Carol, Gabriele, Isabela e Pedro**, deixo aqui minha gratidão por terem caminhado ao meu lado durante essa trajetória. Obrigada por toda ajuda em cada etapa da pesquisa, pela parceria e por tornarem esse caminho mais leve. Cada momento compartilhado, cada dificuldade enfrentada juntos e cada conquista fizeram toda a diferença nessa. Sou muito grata não apenas pela ajuda acadêmica, mas também pela amizade. Por fim, deixo aqui meus agradecimentos ao **NEPPI – Núcleo de estudos em periodontia e implantodontia** e a todos que compõe esse time maravilhoso e que fazem não só a minha, mas todas as pesquisas do grupo acontecerem.

Gostaria de agradecer **a bateria da faculdade**, por todos os momentos inesquecíveis vividos. Sou grata por cada ensaio, apresentação, risada e por toda energia contagiante que tornou a graduação ainda mais especial.

Gostaria de agradecer ao meu **grupo de amigos os “Colegas de classe e o Cris”**, por todos esses anos de amizade, parceria e companheirismo desde o primeiro ano da graduação. Sem vocês, essa caminhada não teria sido a mesma e, muitas vezes, acredito que eu nem teria conseguido chegar até aqui. Ao longo desses anos, vocês se tornaram minha segunda família, pessoas extremamente especiais que estiveram ao meu lado nos momentos bons e difíceis, compartilhando risadas, desafios, conquistas, noites de estudo e memórias que levarei para sempre comigo. Obrigada por todo apoio, carinho, amizade e por tornarem essa trajetória muito mais leve, feliz e inesquecível. Vou levar cada um de vocês no meu coração para sempre. Aproveito a oportunidade para também agradecer a **todos os meus amigos** os quais conheci na faculdade, que fizeram parte dessa trajetória e iluminaram meu caminho ao longo desses 5 anos. Obrigada por terem sido minha casa aqui em Araçatuba, por todo acolhimento, carinho, apoio e por cada momento vivido juntos. Vocês transformaram essa caminhada em algo muito mais leve, feliz e especial. Levarei comigo todas as risadas, conversas, conquistas, abraços e memórias inesquecíveis que construímos juntos. Muito obrigada por cada momento incrível e por terem tornado essa fase da minha vida tão bonita e cheia de amor.

Agradeço **às minhas melhores amigas de infância, Danielle, Bianca, Alice e Luma** que mesmo de longe nunca deixaram de estar ao meu lado. Obrigada por todo apoio, carinho, amizade e por permanecerem presentes em cada fase da minha vida ao longo de todos esses anos. A distância nunca foi capaz de diminuir o amor, a conexão e a importância que vocês têm para mim. Sou muito grata por sempre me incentivarem, me acolherem e torcerem por mim em todos os momentos. Obrigada por serem amigas tão especiais e por fazerem parte da minha vida de uma forma tão bonita e verdadeira.

À minha mãe Valquíria e a minha tia Dirce, faltam palavras para agradecer por tudo o que fizeram e fazem por mim. Obrigada por serem meu maior exemplo de força, amor e dedicação. Nada disso teria sido possível sem vocês ao meu lado em cada passo dessa caminhada. Obrigada por todos os sacrifícios que fizeram silenciosamente para que eu pudesse realizar meus sonhos, por nunca medirem

esforços para me verem feliz e por acreditar em mim até mesmo nos momentos em que eu mesma duvidei. O amor de vocês foi meu abrigo nos dias difíceis e a força de vocês foi o que me sustentou para continuar. Cada conquista minha também é de vocês, porque em cada uma delas existe um pedaço do seu amor, da sua luta e da sua dedicação. Não existe no mundo alguém que eu admire mais do que vocês. Obrigada por serem minha casa, meu colo, minhas melhores amigas e as pessoas mais importantes da minha vida. Vou carregar para sempre comigo tudo o que aprendi com vocês e todo amor que recebo diariamente. Eu amo vocês infinitamente e serei eternamente grata por tudo que fazem por mim.

Ao **meu pai Claudinei**, agradeço por todo apoio, incentivo, por sempre acreditar em mim ao longo dessa caminhada e por ser um exemplo de estudo e perseverança. Obrigada por estar ao meu lado e por contribuir para que eu pudesse realizar meus sonhos através de todos esforços e apoio que me deu ao longo da minha vida. Eu te amo.

Aos meus avós, deixo aqui toda minha gratidão e amor. Ao meu avô, que mesmo não estando mais aqui fisicamente, segue presente em meu coração, nas lembranças e em todos os ensinamentos que deixou na minha vida. À minha avó, agradeço por todo carinho, cuidado, apoio e amor incondicional de sempre. Obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos e por ser uma presença tão especial na minha vida.

Agradeço a **toda minha família, em especial a Minha tia Maria Neide, meu tio Silas e meu tio Darlan** por todo apoio, incentivo, ajuda e por sempre acreditarem em mim, obrigada por serem minha base, meu exemplo e por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos.

Ao meu namorado, Edgard, meu amor e meu maior porto seguro, obrigada por estar ao meu lado durante esses 4 anos de namoro e por ter vivido comigo cada momento dessa graduação desde o começo. Você foi minha casa nos dias difíceis, meu abraço nas crises, minha calma nos momentos de medo e a pessoa que nunca me deixou desistir. Obrigada por segurar minha mão em cada fase, por acreditar em mim até quando eu mesma não acreditava e por comemorar cada conquista como se fosse sua também. Não consigo imaginar essa caminhada sem você. Seu amor

tornou tudo mais leve, mais bonito e mais possível. Obrigada por ser meu lar, meu melhor amigo, minha paz e meu tudo. Eu te amo infinitamente.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos é apenas uma gota no oceano. Mas, o oceano seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

GARCIA, L. G. B **Avaliação dos efeitos da suplementação oral com biotina na progressão e tratamento da periodontite experimental**: 2026. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que afeta os tecidos de suporte do dente, resultando em destruição e perda óssea. Este estudo avaliou os efeitos da suplementação com biotina no tratamento da periodontite experimental em ratos. A literatura destaca a importância da dieta e nutrição, na terapia periodontal, porém, há lacunas no entendimento de como esses nutrientes podem melhorar os resultados da terapia. A abordagem da periodontia personalizada considera as diferenças individuais nos genes, ambiente e estilo de vida, ressaltando a relevância da suplementação nutricional na saúde periodontal. As terapias atuais para doenças periodontais incluem abordagens cirúrgicas e não cirúrgicas, visando controlar o biofilme e a inflamação para restaurar a homeostase entre microrganismos e hospedeiro. O tratamento mecânico convencional, como a raspagem e alisamento radicular, é considerado o padrão ouro na terapia periodontal, focando na redução dos achados clínicos indesejáveis e no controle da inflamação. A biotina, também conhecida como vitamina B7, é uma vitamina essencial para o bom funcionamento do corpo, relacionada com a produção de glicogênio e proteínas. Estudos recentes demonstram seu potencial favorável para a manutenção óssea, estimulando a guanilato ciclase solúvel (GCS) e promovendo a produção de GMP cíclico (cGMP). A ingestão de biotina em altas doses é clinicamente bem tolerada e pode auxiliar na densidade óssea, sendo uma estratégia válida para situações de doença periodontal. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da biotina (Bio) na evolução da periodontite experimental em ratos, para isso 100 animais foram divididos nos grupos experimentais BIO, PE/BIO, PE/SS, SS (AD), Controle BIO, PE-RAR/BIO, RAR-PE/SS, com controles negativos e positivos. A administração de biotina e solução salina (SS) ocorreu via gavagem e a periodontite experimental foi induzida nos primeiros molares inferiores. Foram realizadas as análises histométrica e histopatológicas através do preparo de lâminas de cortes semi-seriados (4µm) coradas pela técnica de H&E da região de furca. A normalidade e a homoscedasticidade dos dados serão analisadas e submetidos ao teste paramétrico

ou não paramétrico mais adequado. O nível de significância adotado será de 5% ($p \leq 0,05$).

Palavras-chave: biotina; periodontite; raspagem e alisamento radicular.

ABSTRACT

GARCIA L. G. B. **Evaluation of the effects of oral supplementation with Biotin on the progression and treatment of experimental periodontitis**: 2026. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

Periodontitis is a chronic inflammatory disease that affects the supporting tissues of the tooth, resulting in destruction and bone loss. This study aims to evaluate the effects of biotin supplementation in the treatment of experimental periodontitis in rats. The literature highlights the importance of diet and nutrition in periodontal therapy; however, there are gaps in understanding how these nutrients can improve therapy outcomes. The personalized periodontics approach considers individual differences in genes, environment, and lifestyle, emphasizing the relevance of nutritional supplementation in periodontal health. Current therapies for periodontal diseases include surgical and non-surgical approaches, aiming to control biofilm and inflammation to restore homeostasis between microorganisms and the host. Conventional mechanical treatment, such as scaling and root planing, is considered the gold standard in periodontal therapy, focusing on reducing undesirable clinical findings and controlling inflammation. Biotin, also known as vitamin B7, is an essential vitamin for the proper functioning of the body, related to the production of glycogen and proteins. Recent studies demonstrate its favorable potential for bone maintenance, stimulating soluble guanylate cyclase (GCS) and promoting the production of cyclic GMP (cGMP). High-dose biotin intake is clinically well-tolerated and may aid in bone density, making it a valid strategy for periodontal disease. The aim of this study is to evaluate the effect of biotin (Bio) on the progression of experimental periodontitis in rats. For this purpose, 100 animals were divided into the experimental groups BIO, PE/BIO, PE/SS, SS (AD), Control BIO, PE-RAR/BIO, RAR-PE/SS, with negative and positive controls. Biotin and saline solution (SS) will be administered via gavage, and experimental periodontitis will be induced in the first lower molars. Histometric and histopathological analyses will be performed using semi-serial section slides (4µm) stained with H&E from the furcation area. The normality and homoscedasticity of the data will be analyzed and subjected to the most appropriate parametric or non-parametric test. The significance level adopted will be 5% ($p \leq 0.05$).

Keywords: biotin; periodontitis; scaling and root planing.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Figura mostrando a linha do tempo e o delineamento da pesquisa, de acordo com os períodos experimentais pré-estabelecidos 23
- Figura 2 - Figura ilustrando as regiões de interesse para cada análise. Em A é possível observar a área total de furca (AF) demarcada pelo pontilhado vermelho, enquanto o pontilhado azul demonstra a área ocupada por osso vital (AO), usadas para a análise histométrica; já em B está representada a região de interesse das análises citadas na presença de tecido ósseo necrótico, representado pela cor rosa 25
- Figura 3 - Gráfico representando as médias e desvio padrão da análise de porcentagem de osso na furca (POF) de cada grupo e período experimental na análise histométrica 28
- Figura 4 - Fotomicrografias (aumento 2,5x) da análise histopatológica da região de furca do primeiro molar inferior de ratos com indução da periodontite experimental (PE), representando a progressão da doença em diferentes tempos experimentais 33
- Figura 5 - Fotomicrografias (aumento 2,5x) da análise histopatológica da região de furca do primeiro molar inferior direito de ratos sem indução da periodontite experimental (PE), representando os controles negativos em diferentes tempos experimentais 34
- Figura 6 - Fotomicrografias (aumento 2,5x) da análise histopatológica da região de furca do primeiro molar inferior esquerdo de ratos com indução da periodontite experimental (PE), que receberam tratamento de RAR, representando a evolução do tratamento em diferentes tempos experimentais 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela mostrando as médias e desvio padrão da porcentagem de osso em furca (POF) para cada grupo e período experimental na análise histométrica através da coloração de H&E

29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
AF	Área total de furca
AD	Água destilada
AO	Área ocupada por osso
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
Bio	Biotina
BR	Brasil
cGMP	Guanosina monofosfato cíclico
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
EUA	Estados Unidos da América
G	Gramma
IL	Interleucina
IL-1 α	Interleucina 1 alfa
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
Kg	Quilograma
Mg	Miligrama
ml	Mililitro
PE	Periodontite experimental
POF	Porcentagem de osso na furca
RAR	Raspagem e alisamento radicular (RAR)
ROI	Região de Interesse
SASP	Fenótipo secretor associado à senescência
T-CD4+	Linfócito T auxiliar
μ m	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 PROPOSIÇÃO	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Animais	20
3.2 Cálculo Amostral	20
3.3 Grupos Experimentais	21
3.4 Protocolo de Administração de Biotina ou Água Destilada	21
3.5 Sedação e Anestesia	22
3.6 Indução de Periodontite Experimental	22
3.7 Raspagem e Alisamento Radicular	22
3.8 Períodos Experimentais e Obtenção das Amostras	22
3.9 Processamento Laboratorial	23
3.10 Análises dos Resultados	24
3.10.1 Análise Histométrica da POF	24
3.10.2 Análise Histopatológica dos Tecidos Periodontais	25
3.10.3 Análise estatística dos dados	25
4 RESULTADOS	27
4.1 Análise Histométrica da POF	27
4.2 Análise Histopatológica dos Tecidos Periodontais	29
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXOS	47

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é a doença inflamatória crônica mais comum entre as doenças periodontais e afeta grande parte da população adulta. Ela causa destruição dos tecidos de suporte dental, osso alveolar, ligamento periodontal e cimento¹⁻² devido a ação de microrganismos periodontopatogênicos associados a resposta infamatória do hospedeiro. Essa interação pode levar a perda óssea e até a perda dentária⁴⁻⁶.

A etiologia é multifatorial e complexa e envolve três níveis principais: microbiota disbiótica, suscetibilidade do hospedeiro (incluindo fatores genéticos) e fatores ambientais ou sistêmicos, como estresse, dieta e tabagismo. A disbiose sozinha não causa a doença, mas pode desencadeá-la quando associada a fatores de risco individuais⁷⁻¹⁰.

A resposta imune exerce papel decisivo na extensão do dano tecidual¹¹⁻¹³. Os neutrófilos são as células mais abundantes no processo inflamatório periodontal, podendo liberar enzimas, espécies reativas de oxigênio e até induzir reabsorção óssea. Eles também influenciam outras células, como linfócitos T e B, que contribuem para a inflamação e destruição dos tecidos¹⁴⁻¹⁷.

O envelhecimento aumenta a suscetibilidade à periodontite devido ao acúmulo de células senescentes e ao estado inflamatório crônico associado ao SASP, que altera a atividade de fibroblastos e reduz a capacidade de reparo tecidual⁹.

O tratamento periodontal baseia-se no controle do biofilme, com destaque para a raspagem e o alisamento radicular, considerados padrão ouro¹⁸⁻¹⁹. Entretanto, o sucesso terapêutico depende do comportamento do paciente e da variabilidade individual da resposta imunoinflamatória, influenciada por fatores ambientais, genéticos e socioeconômicos. Com isso, a periodontia personalizada surge como abordagem que considera características específicas de cada indivíduo, incluindo dieta e suplementação²⁰⁻²³.

Entre os micronutrientes de interesse, destaca-se a biotina (vitamina B7), que tem impacto positivo sobre funções imunológicas, cicatrização e manutenção óssea. Estudos mostram sua ação na densidade óssea por meio da ativação da guanilato ciclase solúvel e efeitos favoráveis em osteoblastos. Evidências também indicam seu

papel na produção e maturação do colágeno, fundamental para a integridade do tecido conjuntivo periodontal²⁴⁻²⁵.

A biotina contribui para a estabilidade do tecido conjuntivo rico em colágeno, essencial para suporte dental, reparo e resistência às forças mastigatórias. Sua deficiência pode comprometer a saúde periodontal, mas seus efeitos específicos no periodonto ainda são pouco investigados. Assim, torna-se relevante estudar seu impacto em condições de normalidade, doença periodontal ativa e após tratamento²⁶.

2 PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com biotina em modelos com periodonto saudável, com doença induzida e após terapia periodontal, considerando sua potencial atuação nos tecidos ósseo e conjuntivo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 100 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 por gaiola, recebendo ração e água ad libitum. Antes dos procedimentos cirúrgicos, todos os animais foram aclimatados em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) por um período de 5 dias. Todos os protocolos descritos foram submetidos à aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, conforme Processo FOA nº 422-2023, conforme consta no Anexo I. A pesquisa foi conduzida de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e seguindo as diretrizes do The ARRIVE Guidelines: Animal Research: Reporting In Vivo Experiments²⁷.

Cálculo Amostral

O tamanho da amostra foi calculado com base na execução de um estudo piloto, experiência prévia e seguindo as diretrizes dos NC3Rs (NC3Rs Reporting Guidelines Working Group, 2010)²⁸. Dessa forma, $n=10$ foi considerado suficiente para rejeitar a hipótese nula nas análises histológica, histométrica e imunoistoquímica. A estimativa para cada medida de resultado foi realizada com o objetivo de atingir um poder de 0,8 e erro alfa 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 uma caneta Nankin. A sequência numérica foi carregada no software Minitab® 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA) e uma randomização simples (taxa de distribuição 1:1) para os grupos PE/BIO 7 dias, PE/BIO 15 dias, PE/BIO 30 dias, PE/AD 7 dias, PE/AD 15 dias, PE/AD 30 dias, PE-RAR/BIO 7 dias, PE-RAR/BIO 30 dias, PE-RAR/AD 7 dias e PE-RAR/AD 30 dias foi realizada por meio de uma tabela numérica randômica gerada por computador, por uma pessoa externa ao estudo e cega aos tratamentos.

Grupos Experimentais

Os animais foram inicialmente divididos em dois grandes grupos de acordo com a solução administrada, sendo 0,4 ml de solução contendo 5mg de biotina diluída em 10 ml de água destilada (grupo BIO) ou 0,4 ml de solução contendo somente água destilada (grupo AD), as quais foram administradas durante todo período experimental. Após 30 dias do início da gavagem, todos os 100 animais tiveram a periodontite experimental (PE) induzida no primeiro molar inferior esquerdo. Destes, um total de 60 animais foram eutanasiados com 7, 15 e 30 dias após a indução da PE (20 animais por dia, sendo 10 do grupo BIO e 10 do grupo AD em cada dia), para avaliação da progressão da doença, formando assim os grupos PE/BIO e PE/AD. Os primeiros molares inferiores direitos destes mesmos animais, em que não foi induzida a PE, foram utilizados como controle negativo para as análises laboratoriais, servindo para comparação com o grupo de progressão e compondo os grupos BIO e AD. Dentre os 40 animais restantes, a PE também foi induzida no primeiro molar direito. Seguidos quinze dias da indução da PE, foi realizado o tratamento não cirúrgico convencional de raspagem e alisamento radicular (RAR) nos primeiros molares esquerdos. Estes animais foram eutanasiados aos 7 e 30 dias após tratamento de RAR, formando assim os grupos RAR PE/BIO e RAR-PE/AD. Os molares inferiores direitos foram utilizados para avaliar a progressão da doença aos 22 e 45 dias após indução. Os períodos de eutanásia podem ser observados na Figura 1, juntamente com o delineamento do projeto.

Protocolo de Administração de Biotina ou Água Destilada

A cada 24 horas, os animais receberam solução de biotina diluída em água destilada via gavagem, em horário pré-estabelecido, com início 30 dias antes da indução da PE, permanecendo até o fim do período experimental. A biotina foi diluída em água destilada na concentração de 0,5 mg/ml. Para cada animal, foi administrado um volume de 0,4 ml da solução diluída, totalizando de 0,2 mg/dia, conforme o protocolo sugerido na literatura²⁹⁻³⁰. A administração de água destilada foi realizada com o objetivo de simular as mesmas condições de estresse diário provenientes da gavagem de biotina.

Sedação e Anestesia

Para todos os procedimentos cirúrgicos (indução e tratamento da PE), os animais foram submetidos à anestesia geral, obtida pela associação de 70 mg/kg de Cloridrato de quetamina (Vetaset – Zoetis, Florham Park, NJ, EUA) e 6 mg/kg de Cloridrato de xilazina (Coopazine – Coopers, São Paulo, Brasil), administrados por via intramuscular no bíceps femoral da pata direita.

Indução de Periodontite Experimental

Após acomodação dos animais em mesa operatória adequada, foi posicionado ao redor dos primeiros molares inferiores esquerdos e direitos, de acordo com o grupo experimental, um fio de algodão número 24 (Corrente Algodão n°24, Coats Corrente, São Paulo, SP, Brasil), mantido em posição subgengival por meio de nós cirúrgicos, para indução da PE³¹.

Raspagem e Alisamento Radicular

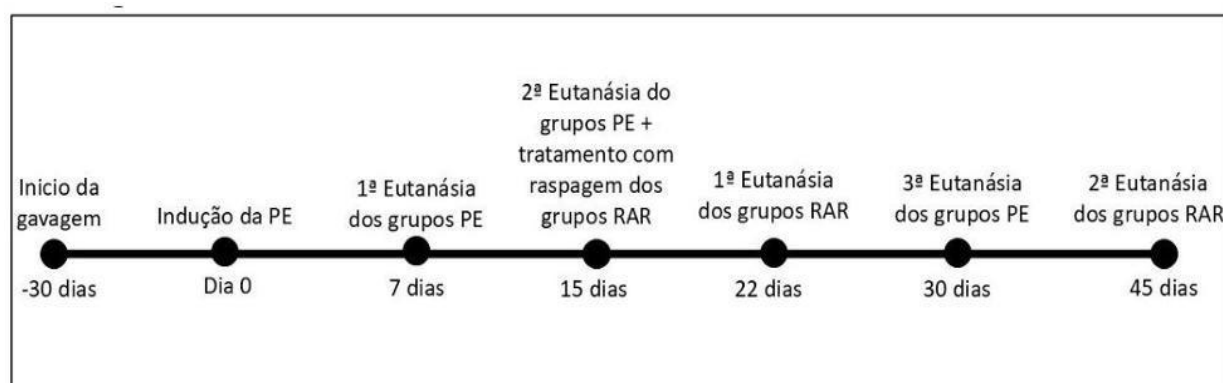
O tratamento local com RAR foi realizado, após remoção da ligadura, com curetas manuais Mini-Five 5-6 (Hu-Friedy Co. Inc., Chicago, IL, EUA) por meio de 10 movimentos de tração disto-mesial nas faces vestibular e lingual. As áreas Interproximais e de furca foram raspadas com as mesmas curetas através de movimentos de tração cérvico-oclusais³²⁻³³.

Períodos Experimentais e Obtenção das Amostras

A eutanásia dos animais, em cada período estabelecido, foi realizada seguindo rigoroso controle técnico e ético. O método utilizado para a eutanásia foi o método químico por administração de dose excessiva de anestésico, seguindo as diretrizes estabelecidas por órgãos reguladores, como o National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA)³⁴ e a American Veterinary Medical Association (AVMA)³⁵. Todas as etapas para a eutanásia foram realizadas com protocolo para minimizar a dor, o sofrimento e com o menor trauma possível,

realizando manejo humanitário, garantindo a utilização de padrões éticos de bem-estar animal. O pesquisador responsável por este procedimento foi previamente treinado e aprovado pelo CONCEA na realização de procedimentos de eutanásia. O procedimento de eutanásia foi realizado com dose letal (150 mg/kg) de tiopental sódico (Cristália Ltda., Itapira, SP, Brasil), após anestesia geral. Considerando que a solução de tiopental possui pH alcalino e, portanto, pode causar irritação ou dor, foi adicionada lidocaína (4mg/kg) à solução. As substâncias foram injetadas intraperitonealmente em jejum prévio, para evitar regurgitação e aspiração do conteúdo gástrico. Todos esses procedimentos foram realizados em ambiente calmo e longe de outros animais, garantindo o mínimo de estresse. Para confirmar a morte do animal, foram utilizados métodos complementares para avaliar os sinais vitais, como a verificação da ausência de reflexos cardíacos, respiratórios, pupilares e qualquer atividade cerebral residual, o que é obrigatório para garantir a eficácia do procedimento.

Figura 1 - Figura mostrando a linha do tempo e o delineamento da pesquisa, de acordo com os períodos experimentais pré-estabelecidos



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Processamento Laboratorial

Após a fixação em solução de formaldeído tamponado, as amostras foram lavadas em água corrente e desmineralizadas em solução de EDTA 10%, com trocas semanais, por um período médio de 8 semanas. Após o processamento histológico convencional e inclusão em parafina, cortes semi-seriados (4 µm) foram

obtidos em progressão de vestibular para lingual. Após a 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.

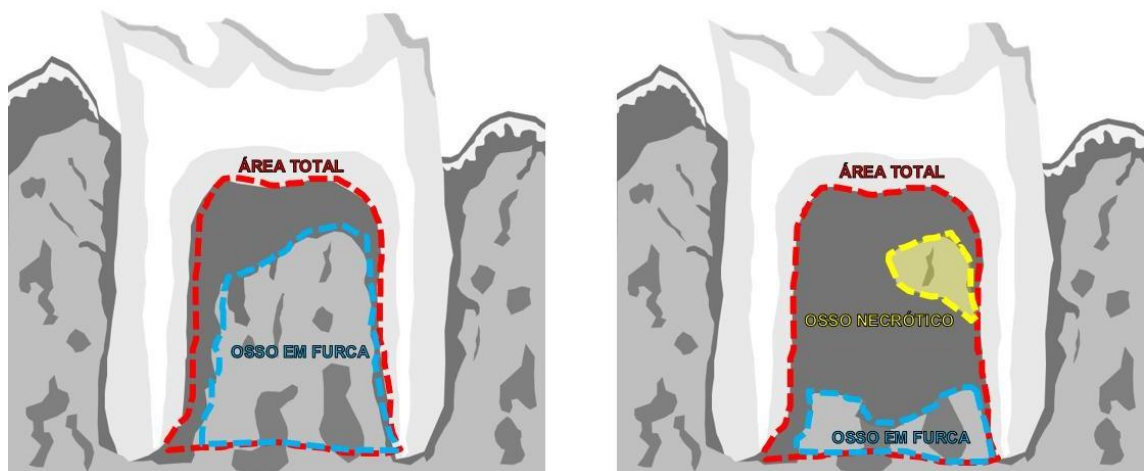
Análises dos Resultados

Análise Histométrica da POF

Para a determinação da Porcentagem de Osso na Furca (POF), foi utilizado um sistema de análise de imagem ImageJ (Processing Software and Image Analysis, Ontario, Canada). Foi mensurada a área total da furca (AF) e, em seguida, a área ocupada por osso (AO), ambas em mm². 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-se todo o contorno da superfície externa do cimento situado entre as raízes³⁶.

A AO teve o mesmo limite apical da AF e, a partir deste, seguiu todo o contorno da superfície externa do tecido ósseo entre as raízes. O modelo representando a AF e a AO pode ser observado na Figura 2-A e na Figura 2-D, sendo que nesta está representada a região de escolha quando havia presença de osso não vital. Foi calculada 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 experimentais³⁶.

Figura 2 - Figura ilustrando as regiões de interesse para cada análise. Em A é possível observar a área total de furca (AF) demarcada pelo pontilhado vermelho, enquanto o pontilhado azul demonstra a área ocupada por osso vital (AO), usadas para a análise histométrica; já em B está representada a região de interesse das análises citadas na presença de tecido ósseo necrótico, representado pela cor rosa



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Análise Histopatológica dos Tecidos Periodontais

Foi efetuada a microscopia óptica de luz na região que compreendia os tecidos Interproximais e o interior da furca, avaliando os seguintes parâmetros: 1) intensidade da resposta inflamatória local; 2) extensão do processo inflamatório; 3) reabsorção radicular externa (cimento e dentina); 4) reabsorção alveolar; 5) padrão de estruturação do tecido conjuntivo da região de furca; 6) padrão de estruturação do tecido ósseo alveolar da região de furca.³⁷

Análise estatística dos dados

Os dados foram analisados pelo teste de Shapiro-Wilk para verificação de normalidade e homoscedasticidade e, em seguida, foram submetidos ao teste

paramétrico ou não paramétrico mais adequado. O nível de significância adotado é de 5% ($p \leq 0,05$).

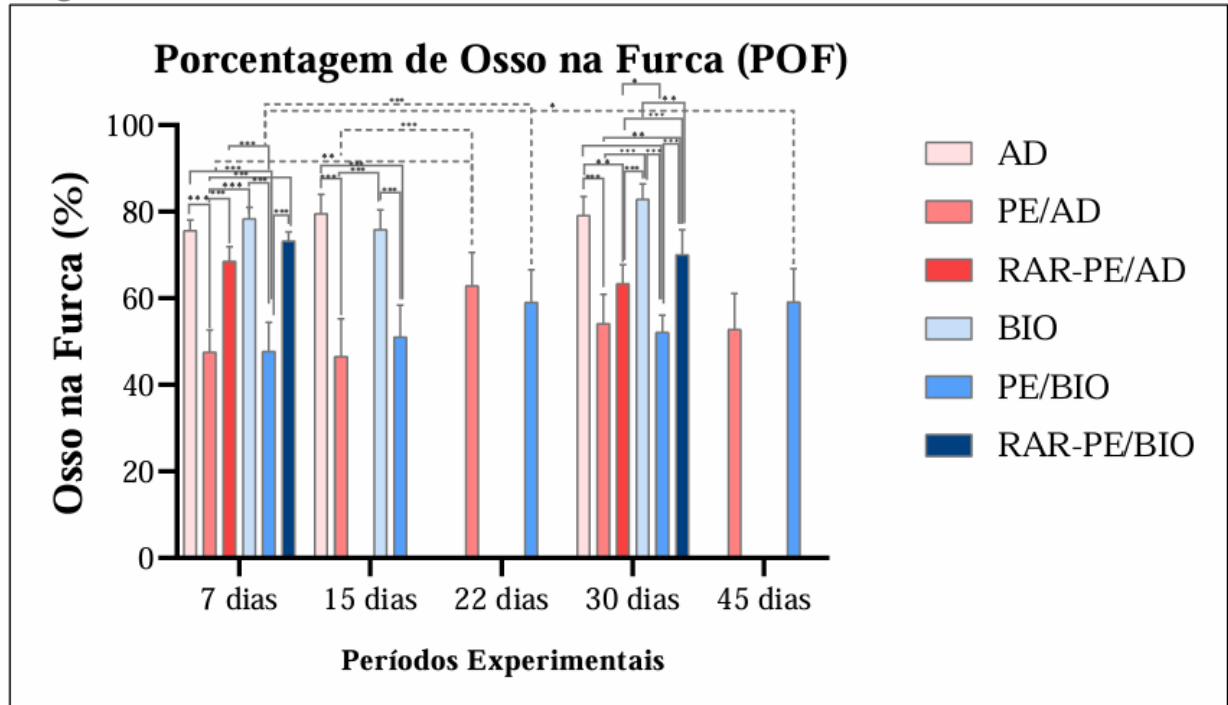
4 RESULTADOS

Independentemente do grupo experimental, todos os animais usados neste experimento eram saudáveis e nenhuma complicação foi observada durante o estudo.

Análise Histométrica da POF

Na análise intergrupo da POF, foi possível observar que, nos grupos em que não ocorreu a indução da PE, as médias da porcentagem de tecido ósseo na região de furca foram maiores do que as médias dos animais que tiveram a doença periodontal induzida, independente do período experimental e substância administrada. Da mesma forma, os animais que receberam tratamento de RAR apresentaram maiores médias do que aqueles que tiveram apenas a indução da lesão sem tratamento, independente do período e substância administrada. As médias e desvio padrão dos resultados da POF para cada grupo e período estão representados na Tabela 1 e graficamente na Figura 3, enquanto as imagens histológicas podem ser observadas nas Figuras 4, 5 e 6. Quanto à análise intragrupo, constatou-se que o grupo PE/BIO, aos 45 e 22 dias, apresentou estatisticamente maior POF que no menor tempo de eutanásia (7 dias), o que não aconteceu no grupo que recebeu administração de água destilada (PE/BIO-45D > PE/BIO-22D > PE/BIO-7D).

Figura 3 - Gráfico representando as médias e desvio padrão da análise de porcentagem de osso na furca (POF) de cada grupo e período experimental na análise histométrica



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Legenda: (*) – pouca diferença estatística; (**) – diferença estatística significativa; (***) – elevada diferença estatística. Linha reta: análise intergrupo; Linha pontilhada: análise intragrupo. Teste de normalidade: Shapiro-Wilk; Teste estatístico: ANOVA Two-way ($p \leq 0,05$).

Tabela 1 – Tabela mostrando as médias e desvio padrão da porcentagem de osso em furca (POF) para cada grupo e período experimental na análise histométrica através da coloração de H&E

Grupos e períodos experimentais	Médias (%) e desvio padrão ($\pm$)
AD – 7 dias	75,69 ($\pm$ 2,65) *
AD – 15 dias	79,58 ($\pm$ 4,39) *
AD – 30 dias	79,32 ($\pm$ 5,2) *
BIO – 7 dias	77,99 ($\pm$ 3,28) *
BIO – 15 dias	75,7 ($\pm$ 6,12) *
BIO – 30 dias	82,83 ($\pm$ 3,73) *
PE/AD – 7 dias	47,56 ($\pm$ 5,05)
PE/AD – 15 dias	46,63 ($\pm$ 9,52)
PE/AD – 22 dias	62,93 ($\pm$ 7,58)
PE/AD – 30 dias	54,13 ($\pm$ 6,79)
PE/AD – 45 dias	52,82 ($\pm$ 8,24)
PE/BIO – 7 dias	47,72 ($\pm$ 8,4)
PE/BIO – 15 dias	51,04 ($\pm$ 8,94)
PE/BIO – 22 dias	53,5 ($\pm$ 8,69) $\diamond$
PE/BIO – 30 dias	59,04 ($\pm$ 9,23)
PE/BIO – 45 dias	59,29 ($\pm$ 9,39) $\diamond$
RAR-PE/AD – 7 dias	68,88 ($\pm$ 4,64) β
RAR-PE/AD – 30 dias	63,63 ($\pm$ 5,01) β
RAR-PE/BIO – 7 dias	73,05 ($\pm$ 2,52) β
RAR-PE/BIO – 30 dias	70,49 ($\pm$ 5,61) β

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Legenda: (*) – maior porcentagem de POF do que os grupos que tiveram indução da PE na análise intergrupo; (β) – maior porcentagem de POF do que os grupos que tiveram indução da PE, mas não receberam tratamento de RAR, na análise intergrupo; ($\diamond$) – maior porcentagem de POF do que o menor tempo experimental na análise intragrupo. Teste de normalidade: Shapiro-Wilk; Teste estatístico: ANOVA Two-way ($p \leq 0,05$).

Análise Histopatológica dos Tecidos Periodontais

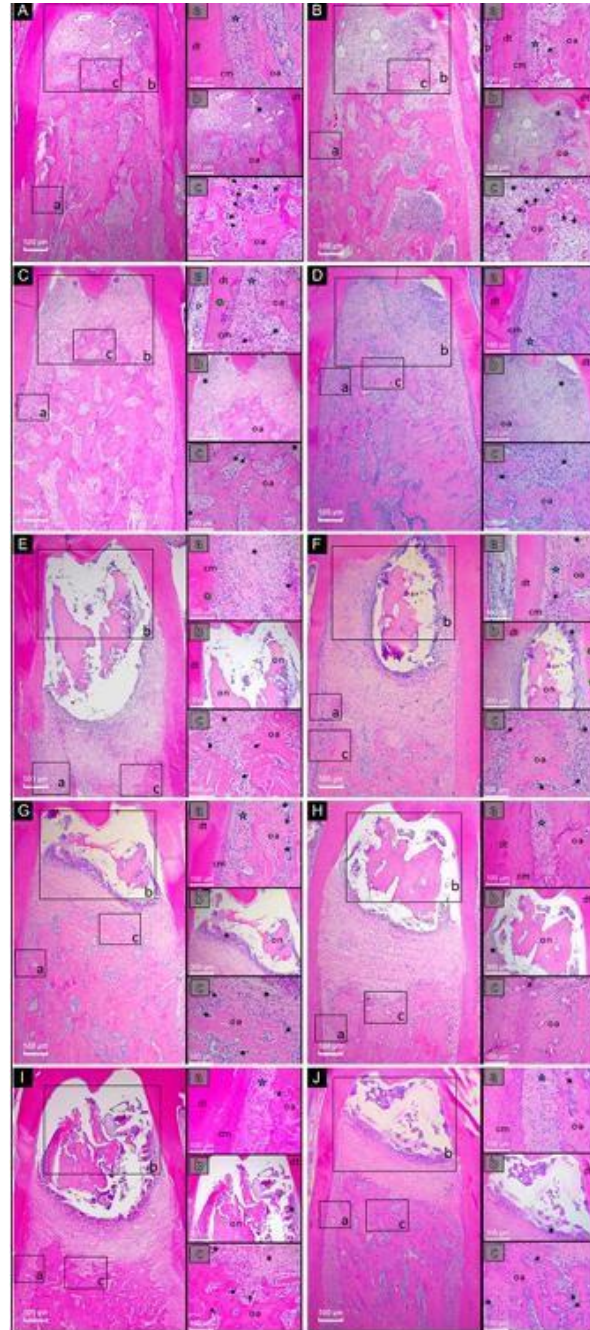
Na análise histopatológica da região de furca do primeiro molar de ratos sem doença periodontal induzida (grupos AD e BIO), constatou-se que o periodonto apresentava-se íntegro, evidenciando uma arquitetura tecidual bem organizada, independente do período experimental, como observado na Tabela 1. O cimento, revestindo a superfície radicular, caracterizava-se por uma camada contínua de tecido mineralizado, onde as fibras de Sharpey estavam inseridas, indicando uma ancoragem eficiente das fibras colágenas. O ligamento periodontal, por sua vez, exibia feixes espessos e orientados de fibras colágenas maduras, dispostas de maneira regular, bem-organizadas e uniformes, ocupando a totalidade do espaço

periodontal e conectando o cimento ao osso alveolar. O tecido conjuntivo intersticial do ligamento periodontal apresentava uma matriz extracelular rica em substância fundamental amorfa, além de uma população celular diversificada, incluindo fibroblastos ativos, células mesenquimais indiferenciadas, restos epiteliais de Malassez e elementos vasculares e nervosos bem distribuídos. O osso alveolar demonstrava uma estrutura trabecular saudável, com osteócitos alojados em lacunas e uma superfície óssea revestida por osteoblastos ativos, com rara presença de osteoclastos, sugerindo um equilíbrio positivo entre os processos de formação e remodelação óssea. Não foram observados sinais de inflamação ou reabsorção patológica nas estruturas periodontais avaliadas, indicando a manutenção da homeostase tecidual característica de um periodonto saudável. Em relação aos grupos PE, tanto em AD quanto em BIO, observou-se uma progressão temporal das alterações teciduais causadas pela doença periodontal nos períodos de 7, 15 dias com características sugestivas a cronificação aos 22, 30 e 45 dias, podendo ser observadas na Figura 5. Aos 7 dias (Figura 5 – A e B), notou-se um infiltrado inflamatório moderado no tecido conjuntivo, composto principalmente por neutrófilos e linfócitos, com rara presença de eosinófilos. O ligamento periodontal apresentava desorganização das fibras colágenas, estendendo-se para as fibras de Sharpey, e havia presença de edema intersticial. O osso alveolar mostrava sinais iniciais de reabsorção, com presença de lacunas contendo osteoclastos ativos em íntimo contato com o tecido ósseo. Essas características são compatíveis com um processo agudo da doença. Com 15 dias de progressão (Figura 5 – C e D), o infiltrado inflamatório tornou-se mais intenso, com aumento de plasmócitos e macrófagos, apresentando sinais de cronificação. As fibras de Sharpey exibiam destruição acentuada, comprometendo a inserção periodontal, também podendo ser observadas áreas de reabsorção radicular externa no cimento. A reabsorção óssea alveolar era mais evidente, com maior número de osteoclastos e áreas de destruição trabecular. Aos 22 dias (Figura 5 – E e F), as alterações inflamatórias e destrutivas continuaram a presentes independentemente da substância administrada. Entretanto, o infiltrado inflamatório apresentava características de cronificação e estendia-se mais profundamente no tecido conjuntivo, com presença de um ligamento periodontal comprometido, havendo perda significativa de fibras colágenas e reabsorção radicular externa. O infiltrado inflamatório foi caracterizado histologicamente pela presença predominante de linfócitos, plasmócitos e

macrófagos, indicando uma resposta imune adaptativa sustentada, enquanto o tecido conjuntivo apresentava sinais de vascularização. O osso alveolar apresentava áreas extensas de reabsorção, reduzindo a altura da crista óssea e foi possível observar a presença de osso não vital, caracterizado como um sequestro ósseo circundado de infiltrado inflamatório com lacunas sem a presença de osteócitos. Após 30 dias (Figura 5 – G e H), observou-se a destruição tecidual, porém o periodonto aparentava ter alcançado um estado de estabilização relativa, caracterizando-se por um infiltrado inflamatório crônico bem estabelecido, com a formação de capilares e sinais de remodelação tecidual. As fibras de Sharpey estavam quase totalmente ausentes, indicando perda de inserção periodontal. A reabsorção óssea alveolar era severa, com destruição significativa das trabéculas ósseas e presença de tecido ósseo necrótico na região mais coronal. Aos 45 dias (Figura 5 – I e J), as lesões periodontais atingiram um estágio crônico avançado. O infiltrado inflamatório apresentava áreas de fibrose, sugerindo uma tentativa de reparo tecidual. O ligamento periodontal estava amplamente destruído e o osso alveolar exibia reabsorção extensa, resultando em perda óssea significativa, além da maior presença de osso necrótico. Por fim, em relação aos grupos submetidos à periodontite experimental induzida, seguida de tratamento por raspagem e alisamento radicular, foram observadas alterações teciduais significativas nos períodos de 7 e 30 dias pós-tratamento. Aos 7 dias (Figura 6 – A e B), notou-se uma redução do infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo periodontal, com diminuição de células inflamatórias como neutrófilos e linfócitos, indicando uma resposta inicial positiva ao tratamento mecânico. As fibras colágenas do ligamento periodontal, incluindo as fibras de Sharpey, mostravam-se parcialmente reorganizadas, sugerindo um processo de reestruturação em andamento. O osso alveolar exibia áreas de neoformação óssea, evidenciadas pela presença de osteoblastos ativos nas superfícies de reabsorção, com reduzida presença de osteoclastos. Com 30 dias de tratamento (Figura 6 – C e D), observou-se uma melhora mais pronunciada na integridade tecidual periodontal de ambos os grupos (RAR-PE/AD e RAR PE/BIO). O infiltrado inflamatório estava significativamente reduzido, com predomínio de fibroblastos e menor presença de células inflamatórias, refletindo um estado de reparo um pouco mais avançado. Entretanto, as fibras colágenas do ligamento periodontal apresentavam-se mais organizadas e densamente dispostas no grupo que recebeu a suplementação com biotina, com inserção adequada no cimento e no

osso alveolar, indicando recuperação funcional das fibras de Sharpey, enquanto no grupo que recebeu água destilada, foi possível observar uma reestruturação tardia, quando comparada com o grupo RAR-PE/BIO. O osso alveolar demonstrava progressão na neoformação, com trabéculas ósseas mais espessas e presença contínua de osteoblastos, sugerindo um processo de remodelação óssea em curso em ambos os grupos experimentais.

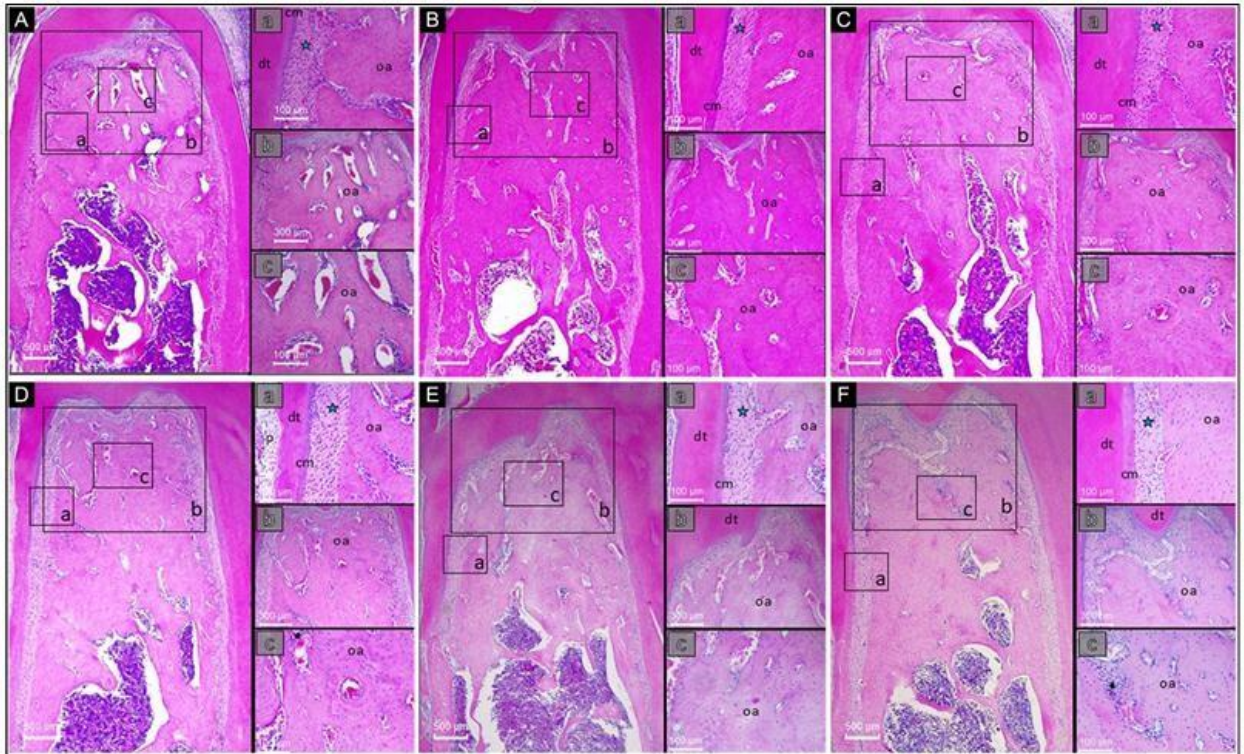
Figura 4 - Fotomicrografias (aumento 2,5x) da análise histopatológica da região de furca do primeiro molar inferior de ratos com indução da periodontite experimental (PE), representando a progressão da doença em diferentes tempos experimentais



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A – Grupo PE/AD aos 7 dias; B – Grupo PE/BIO aos 7 dias; C – Grupo PE/AD aos 15 dias; D – Grupo PE/BIO aos 15 dias; E – Grupo PE/AD aos 22 dias; F – Grupo PE/BIO aos 22 dias; G – Grupo PE/AD aos 30 dias; H - Grupo PE/BIO aos 30 dias; I – Grupo PE/AD aos 45 dias; J – Grupo PE/BIO aos 45 dias. Em “a”, “b”, “c” encontram-se respectivamente as regiões do ligamento periodontal (aumento: 40x), furca (aumento: 10x) e osso alveolar (aumento: 40x). Estrela azul: fibras de Sharpey; *: infiltrado inflamatório; Setas pretas: osteoclastos; Setas verdes: reabsorção externa de cimento/dentina. Legenda: (cm) – cimento; (dt) – dentina; (oa) – osso alveolar; (on) – osso necrótico; (p) – polpa. Coloração: H&E.

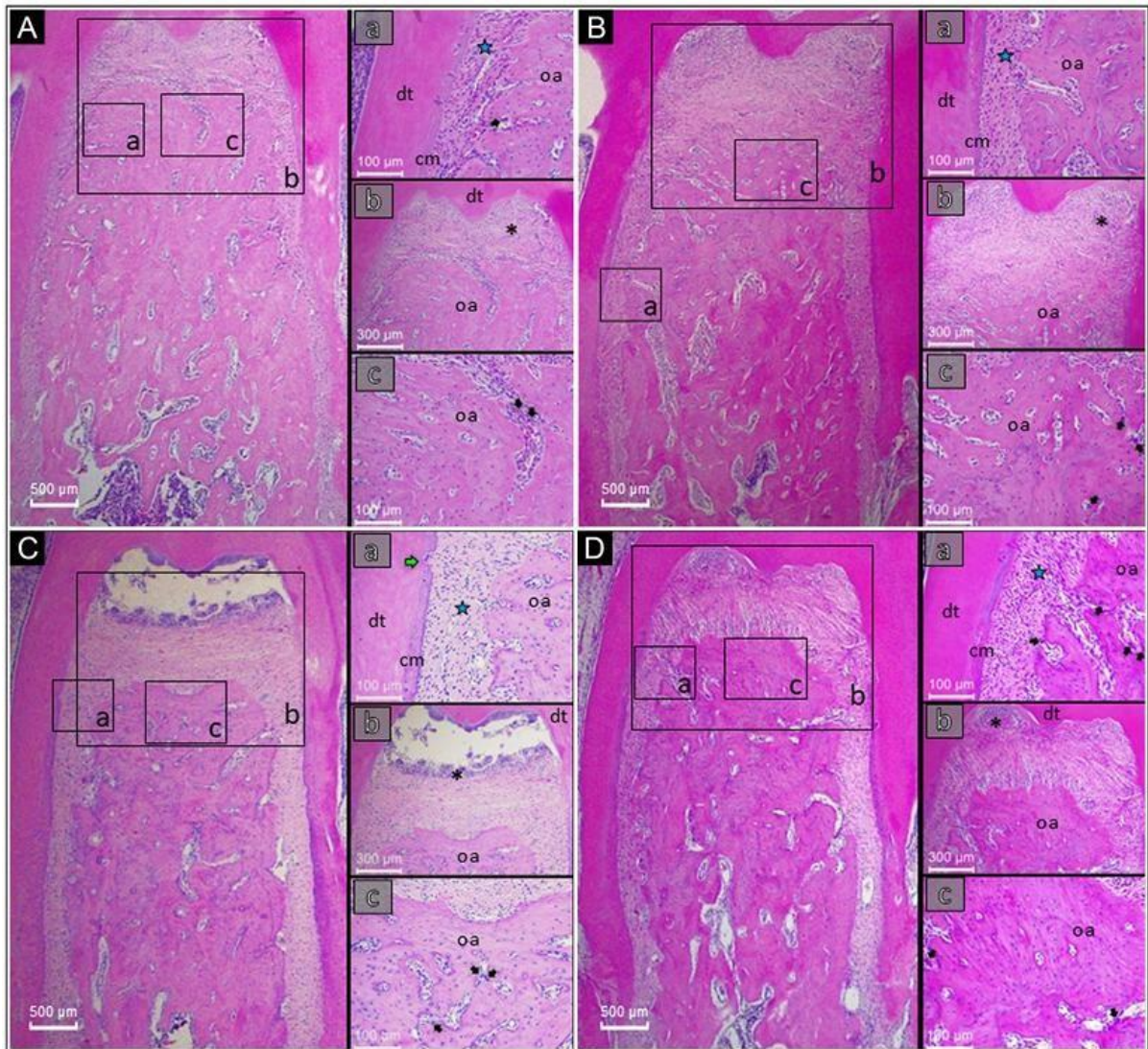
Figura 5 - Fotomicrografias (aumento 2,5x) da análise histopatológica da região de furca do primeiro molar inferior direito de ratos sem indução da periodontite experimental (PE), representando os controles negativos em diferentes tempos experimentais



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A – Grupo AD aos 7 dias; B – Grupo BIO aos 7 dias; C – Grupo AD aos 15 dias; D – Grupo BIO aos 15 dias; E – Grupo AD aos 30 dias; F - Grupo BIO aos 30 dias; Em “a”, “b”, “c” encontram-se respectivamente as regiões do ligamento periodontal (aumento: 40x), furca (aumento: 10x) e osso alveolar (aumento: 40x). Estrela azul: fibras de Sharpey; Setas pretas: osteoclastos. Legenda: (cm) – cimento; (dt) – dentina; (oa) – osso alveolar; (on) – osso necrótico; (p) – polpa. Coloração: H&E.

Figura 6 - Fotomicrografias (aumento 2,5x) da análise histopatológica da região de furca do primeiro molar inferior esquerdo de ratos com indução da periodontite experimental (PE), que receberam tratamento de RAR, representando a evolução do tratamento em diferentes tempos experimentais



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A – Grupo RAR-PE/AD aos 7 dias; B – Grupo RAR-PE/BIO aos 7 dias; C – Grupo RAR-PE/AD aos 30 dias; D – Grupo RAR-PE/BIO aos 30 dias; Em “a”, “b”, “c” encontram-se respectivamente as regiões do ligamento periodontal (aumento: 40x), furca (aumento: 10x) e osso alveolar (aumento: 40x). Estrela azul: fibras de Sharpey; *: infiltrado inflamatório; Setas pretas: osteoclastos; Setas verdes: reabsorção externa de cimento/dentina. Legenda: (cm) – cimento; (dt) – dentina; (oa) – osso alveolar; (on) – osso necrótico. Coloração: H&E.

5 DISCUSSÃO

A utilização de modelos experimentais bem padronizados foi essencial para aprofundar o entendimento das interações complexas envolvidas na PE³⁸⁻³⁹, permitindo a análise detalhada de mecanismos patogênicos, proposição de terapias e investigação de alterações sistêmicas que afetam tecidos saudáveis ou acometidos. Apesar das limitações inerentes aos modelos animais, como os ratos Wistar, estes reproduzem de forma confiável a perda óssea observada em humanos, sendo fundamentais para validar estudos *in vitro* e desenvolver terapias translacionais⁴⁰. A capacidade desses modelos de mimetizar o cenário clínico reforça sua importância na exploração de mecanismos biológicos e na busca por abordagens mais eficazes no avanço da pesquisa em periodontia³⁸⁻⁴⁰. A periodontite é uma condição patológica multifatorial, envolvendo espécies bacterianas específicas e a resposta inflamatória do hospedeiro, e exige modelos experimentais validados para seu estudo⁷⁻³⁹. O modelo de indução da PE por ligadura tem se mostrado eficaz por refletir características clínicas humanas, como inflamação e perda óssea alveolar, o que confirma sua adequação para avaliar progressão da doença, influência sistêmica e modalidades terapêuticas, além de validar hipóteses em pesquisas⁴⁰. Apesar do êxito do tratamento convencional de RAR, persistem desafios clínicos, sobretudo em dentes multirradiculares com envolvimento de furca, devido às dificuldades de acesso e à eficiência do procedimento⁴¹⁻⁴². O caráter individual do paciente é crucial para compreender a evolução das doenças periodontais, direcionando os debates para a medicina personalizada, abordagem introduzida por Bartold (2000)⁹ e ampliada por Korte e Kinney (2016)⁴³. A integração de biomarcadores salivares possibilitou estratificação mais precisa dos pacientes, com base em características individuais e respostas biológicas, oferecendo insights sobre a patogênese, diagnóstico precoce e monitoramento terapêutico. A compreensão aprofundada dos mecanismos que influenciam a progressão da periodontite reforça a individualização das estratégias terapêuticas conforme as especificidades biológicas de cada paciente⁴⁴. Estudos que investigam efeitos da suplementação de micronutrientes na PE evidenciam a interrelação entre fatores nutricionais, resposta inflamatória, patogênese das DPs e capacidade de recuperação tecidual. Reconhecer a influência da singularidade de cada paciente torna evidente a relevância da dieta como objeto de pesquisa. O estilo de vida

saudável tem ganhado destaque, com crescente adesão a práticas que visam saúde e bem estar, como exercícios, alimentação balanceada e uso de suplementos apropriados, os quais promovem qualidade física e bem-estar psicológico⁴⁵. A suplementação nutricional, quando orientada, pode suprir deficiências e fornecer micronutrientes essenciais, como vitaminas, minerais e ácidos graxos, associados à otimização imunológica, saúde óssea e aumento da resistência física⁴⁶. A adoção de hábitos saudáveis repercute na saúde bucal, especialmente na prevenção e manejo da periodontite. O exercício regular melhora a resposta inflamatória sistêmica, enquanto dietas ricas em antioxidantes e nutrientes como vitamina C e ácidos graxos reduzem inflamação gengival e promovem saúde periodontal. Assim, além de favorecer a saúde geral, o estilo de vida saudável desempenha papel fundamental na manutenção da saúde bucal e no manejo das desordens periodontais⁴⁷⁻⁴⁸. Entre essa gama de micronutrientes, a biotina ganhou destaque por estar presente em suplementos amplamente comercializados, devido a seu papel essencial em funções fisiológicas. Popularmente associada à saúde capilar e das unhas, é reconhecida pela eficiência suplementar em deficiências nutricionais, mas suas aplicações ultrapassam esse escopo. Atua como coenzima em reações que convertem carboidratos, gorduras e proteínas em energia, sendo incluída em suplementos para metabolismo energético. Também desempenha papel importante na saúde neurológica, sendo estudada em condições como esclerose múltipla progressiva; é vital durante a gravidez, integrando fórmulas pré-natais; é utilizada na dermatologia para saúde da pele; pode auxiliar na regulação glicêmica em diabetes e contribuir para a saúde cardiovascular por meio do metabolismo lipídico e manutenção do colesterol⁴⁹. A biotina apresenta influência positiva na produção de colágeno por meio de seus efeitos em fibroblastos, o que pode sugerir um efeito favorável sobre o tecido ósseo, já que o colágeno é essencial para a ossificação, e sua deficiência está associada à má formação óssea. Além disso, é comprovada sua capacidade de favorecer a maturação óssea pela estimulação de GCS, que, em doses farmacológicas, promove a ativação de sua forma nativa em cGMP, que ativa proteínas envolvidas no recrutamento de osteoblastos⁵⁰⁻⁵¹. O estudo de Furukawa et al. (1992) elucidou os efeitos da deficiência de biotina em ratos com desordens osteogênicas, demonstrando redução significativa dos níveis de ácido ascórbico e agravamento de distúrbios ósseos, como diminuição da densidade mineral e alterações na formação e remodelação óssea. Isso sugere que a biotina

desempenha papel fundamental na homeostase óssea, possivelmente por influenciar o metabolismo da vitamina C e outros processos osteogênicos. Em sentido oposto, estudos com suplementação em diferentes dosagens, como Quarantelli (2007), demonstraram aumento do conteúdo mineral ósseo em frangos de corte, associado ao conteúdo mineral plasmático e atividade da ALP. Apesar da clara influência dose-dependente da vitamina B7 sobre o tecido ósseo, a suplementação na dosagem utilizada neste estudo não influenciou significativamente a perda óssea frente à agressividade da periodontite. Entretanto, aos 45 e 22 dias, no grupo de progressão da PE, a biotina manteve maior porcentagem de osso na furca do que no tempo experimental de 7 dias, enquanto o grupo tratado com água destilada não apresentou diferenças estatísticas nos mesmos períodos. Isso indica um provável potencial de formação óssea da vitamina em sítios comprometidos pela periodontite, além de apontar uma limitação relacionada à dosagem escolhida. A biotina oral é completamente absorvida mesmo em doses farmacológicas, o que permite seu estudo em diferentes concentrações. O presente estudo considerou a concentração estipulada por Shelley & Shelley (1985), baseada no peso, apoiada pela revisão de Riveron-Negrete et al. (2017). No entanto, a literatura apresenta doses superiores e inferiores às utilizadas. Observou-se que o grupo AD apresentou maior atividade de osteoclastos do que o grupo RAR-PE/AD aos 7 dias, diferentemente dos grupos com biotina no mesmo período. Isso sugere que a vitamina manteve níveis semelhantes de reabsorção por osteoclastos na ausência de PE, independentemente da falta de indução ou do tratamento, enquanto, comparado a AD, a atividade osteoclástica foi estatisticamente maior sem indução da doença do que após o tratamento. Essa evidência abre caminho para novos estudos com dosagens mais elevadas, já que, embora não influencie a reabsorção óssea na presença da PE, na ausência da doença a biotina parece manter padrão baixo de osteoclastos ativos. Apesar do efeito singelo no tecido ósseo, a suplementação oral de biotina parece ter melhorado significativamente a qualidade do tecido conjuntivo na presença da PE. O tecido conjuntivo ao redor do osso alveolar e do ligamento periodontal é essencial para a homeostase e funcionalidade dos dentes multirradiculares, proporcionando suporte estrutural, distribuição de forças e manutenção da integridade periodontal. Atua na

biomecânica da oclusão, absorvendo cargas mastigatórias, reduzindo impacto sobre o osso e prevenindo danos. Sua composição celular e de matriz é fundamental para reparação tecidual e resposta imuno inflamatória, garantindo ambiente favorável à reorganização e preservação do periodonto, contribuindo para longevidade dentária e prevenção de doenças. A individualização do estilo de vida é frequentemente negligenciada, e o tratamento se adapta ao protocolo mais adequado para cada caso. Nesse ponto, destaca-se a periodontia personalizada. Entender que indivíduos com a mesma doença, mas estilos de vida diferentes, podem evoluir de formas distintas sob o mesmo tratamento é essencial para valorizar estudos in vivo como este para o futuro da prática clínica. A biotina se destacou por sua ampla utilização, isoladamente ou associada a outros micronutrientes em complexos vitamínicos. Seu potencial efeito sobre o tecido conjuntivo periodontal foi evidenciado por este estudo, abrindo perspectivas para pesquisas futuras com diferentes dosagens e combinações com outros micronutrientes, visando obter mais evidências sobre sua ação na modulação da periodontite.

6 CONCLUSÃO

A suplementação oral com biotina demonstrou um efeito positivo na estrutura dos tecidos periodontais, particularmente após a intervenção terapêutica por meio de instrumentação periodontal mecânica. A vitamina contribuiu significativamente para a melhora dos parâmetros ósseos.

REFERÊNCIAS

1. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20. doi:10.1016/S0140-6736(05)67728-8.
2. Madhavi B, Prasanna JS, Rani KR. Comparison of pre- and postsurgical periodontal therapeutic effects on serum sclerostin in confirmed periodontitis cases. *J Oral Res Rev*. 2023;15(1):8-13. doi:10.4103/jorr.jorr_12_22.
3. Genco RJ, Löe H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1993;2:98-116. doi:10.1111/j.1600-0757.1993.tb00223.x.
4. Dommisch H, Kebschull M. Periodontite crônica. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editores. *Carranza periodontia clínica*. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016.
5. Kim JH, Lee DE, Cha JH, Bak EJ, Yoo YJ. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and sclerostin expression in osteocytes of alveolar bone in rats with ligature-induced periodontitis. *J Periodontol*. 2014;85(11):e370-8. doi:10.1902/jop.2014.140230.
6. Napimoga MH, Nametala C, Silva FL, Miranda TS, Bossonaro JP, Demasi AP, et al. Involvement of the Wnt- β -catenin signalling antagonists, sclerostin and dickkopf-related protein 1, in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014;41(6):550-7. doi:10.1111/jcpe.12245.
7. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*. 2014;35(1):3-11. doi:10.1016/j.it.2013.09.001.
8. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(1):30-44. doi:10.1038/nri3785.
9. Bartold PM. Lifestyle and periodontitis: the emergence of personalized periodontics. *Periodontol* 2000. 2018;78(1):7-11. doi:10.1111/prd.12237.
10. Rivera-Hidalgo F. Smoking and periodontal disease: a review of the literature. *J Periodontol*. 1986;57(10):617-24. doi:10.1902/jop.1986.57.10.617.

11. Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010;53:138-53. doi:10.1111/j.1600-0757.2010.00340.x.
12. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontol* 2000. 2012;58(1):37-68.
13. Divaris K, Monda KL, North KE, Olshan AF, Reynolds LM, Hsueh WC, et al. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study. *Hum Mol Genet*. 2013;22(11):2312-24. doi:10.1093/hmg/ddt065.
14. Sima C, Glogauer M. Neutrophil dysfunction and host susceptibility to periodontal inflammation: current state of knowledge. *Curr Oral Health Rep*. 2014;1:95-103. doi:10.1007/s40496-014-0015-x.
15. Nussbaum G, Shapira L. How has neutrophil research improved our understanding of periodontal pathogenesis? *J Clin Periodontol*. 2011;38 Suppl 11:49-59. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01678.x.
16. Hernández M, Gamonal J, Tervahartiala T, Mäntylä P, Rivera O, Dezerega A, et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *J Periodontol*. 2010;81(11):1644-52. doi:10.1902/jop.2010.100196.
17. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontal Res*. 1995;30(1):23-33. doi:10.1111/j.1600-0765.1995.tb01249.x.
18. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza periodontia clínica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012.
19. Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Periodontia clínica e implantodontia*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.

20. Ryder MI, Couch ET, Chaffee BW. Personalized periodontal treatment for the tobacco- and alcohol-using patient. *Periodontol 2000*. 2018;78(1):30-46. doi:10.1111/prd.12229.
21. Chapple ILC, Bouchard P, Cagetti MG, Campus G, Carra MC, Cocco F, et al. Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2017;44 Suppl 18:S39-51. doi:10.1111/jcpe.12685.
22. Kornman KS. Contemporary approaches for identifying individual risk for periodontitis. *Periodontol 2000*. 2018;78(1):12-29. doi:10.1111/prd.12234.
23. Spahr A, Divnic-Resnik T. Impact of health and lifestyle food supplements on periodontal tissues and health. *Periodontol 2000*. 2022;90(1):146-75. doi:10.1111/prd.12455.
24. John JJ, Lipner SR. Consumer perception of biotin supplementation. *J Cutan Med Surg*. 2019;23(6):613-6. doi:10.1177/1203475419871046.
25. Peyro Saint Paul L, Debruyne D, Bernard D, Mock DM, Defer GL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of MD1003 (high-dose biotin) in the treatment of progressive multiple sclerosis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016;12(3):327-44. doi:10.1517/17425255.2016.1136288.
26. Plasse RA, Olson SW, Yuan CM, Nee R. Biotin supplement interference with immunoassays for parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D in a patient with metabolic bone disease on maintenance hemodialysis. *Clin Kidney J*. 2019;13(4):710-2. doi:10.1093/ckj/sfz134.
27. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8(6):e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412.
28. NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. *J Physiol*. 2010;588(Pt 14):2519-21. doi:10.1113/jphysiol.2010.192278.

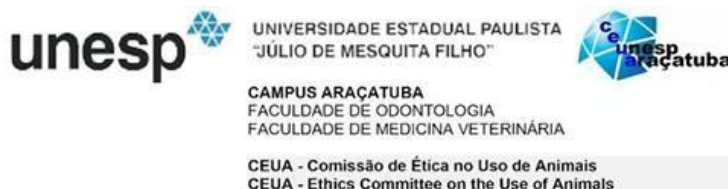
29. Shelley WB, Shelley ED. Uncombable hair syndrome: observations on response to biotin and occurrence in siblings with ectodermal dysplasia. *J Am Acad Dermatol.* 1985;13(1):97-102. doi:10.1016/S0190-9622(85)70150-8.
30. Riveron-Negrete L, Fernandez-Mejia C. Pharmacological effects of biotin in animals. *Mini Rev Med Chem.* 2017;17(6):529-40. doi:10.2174/1389557516666160923132611.
31. Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Oshiiwa M, Garcia VG. In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. *J Periodontol.* 2008;79(6):1081-8. doi:10.1902/jop.2008.070456.
32. Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Oshiiwa M, Garcia VG. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2007;78(3):566-75. doi:10.1902/jop.2007.060214.
33. Almeida J, Ervolino E, Bonfietti LH, Novaes VC, Theodoro LH, Fernandes LA, et al. Adjuvant therapy with sodium alendronate for the treatment of experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2015;86(10):1166-75. doi:10.1902/jop.2015.150166.
34. Ávila RI, Valadares MC. Brazil moves toward the replacement of animal experimentation. *Altern Lab Anim.* 2019;47(2):71-81.
35. Leary S, Underwood W, Anthony R, Cartner S, Corey D, Grandin T, et al. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Schaumburg: American Veterinary Medical Association; 2013.
36. Gusman DJR, Ervolino E, Theodoro LH, Garcia VG, Nagata MJH, Alves BES, et al. Antineoplastic agents exacerbate periodontal inflammation and aggravate experimental periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2019;46(4):457-69. doi:10.1111/jcpe.13101.
37. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia oral e maxilofacial.* 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011.
38. Alfano MC. Controversies, perspectives, and clinical implications of nutrition in periodontal disease. *Dent Clin North Am.* 1976;20(3):519-48.

39. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J.* 2010;4:37-47. doi:10.2174/1874210601004010037.
40. Ionel A, Lucaciu O, Moga M, Buhatel D, Ilea A, Tabaran F, et al. Periodontal disease induced in Wistar rats: experimental study. *Hum Vet Med.* 2015;7(2):90-5.
41. Cattabriga M, Pedrazzoli V, Wilson TG Jr. The conservative approach in the treatment of furcation lesions. *Periodontol 2000.* 2000;22(1):133-53. doi:10.1034/j.1600-0757.2000.2220110.x.
42. Peeran SW, Alsaid FM, Peeran SA, et al. Furcation involvement in periodontal disease: a narrative review. *Cureus.* 2024;16(3):e55741. doi:10.7759/cureus.55741.
43. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):26-37. doi:10.1111/prd.12103.
44. Laforgia A, et al. Therapeutic strategies and genetic implications for periodontal disease management: a systematic review. *Int J Mol Sci.* 2024;25(13):7217. doi:10.3390/ijms25137217.
45. Moiseeva O, Filippova O, Moiseev E. Popularization of shooting sports as a means of introducing young people to a healthy lifestyle. *E3S Web Conf.* 2021;291:01026. doi:10.1051/e3sconf/202129101026.
46. Shao T, et al. Physical activity and nutritional influence on immune function: an important strategy to improve immunity and health status. *Front Physiol.* 2021;12:751374. doi:10.3389/fphys.2021.751374.
47. Xu JN, et al. Association between healthy lifestyle combinations and periodontitis in NHANES. *BMC Oral Health.* 2024;24(1):182. doi:10.1186/s12903-024-03964-1.
48. Marruganti C, et al. Healthy lifestyles are associated with a better response to periodontal therapy: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol.* 2023;50(8):1089-100. doi:10.1111/jcpe.13877.

49. Tolaymat N, Mock DM. Biotin analysis of commercial vitamin and other nutritional supplements. *J Nutr.* 1989;119(10):1357-60. doi:10.1093/jn/119.10.1357.
50. Atamna H, et al. Biotin deficiency inhibits heme synthesis and impairs mitochondria in human lung fibroblasts. *J Nutr.* 2007;137(1):25-31. doi:10.1093/jn/137.1.25.
51. Quarantelli A, et al. Effects of different levels of dietary biotin on the performance and bone structure of broilers. *Ital J Anim Sci.* 2007;6(1):5-7. doi:10.4081/ijas.2007.5.

ANEXOS

ANEXO A - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Avaliação dos efeitos da suplementação oral com Biotina na progressão e tratamento da periodontite experimental**", Processo FOA nº 422-2023, 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 25 de Abril de 2023.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 08 de Maio de 2024.

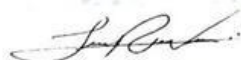
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 08 de Junho de 2024.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Evaluation of the effects of oral supplementation of Biotin on the evolution and treatment of experimental periodontitis**", Protocol FOA nº 422-2023, 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 April 25, 2023.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: May 08, 2024.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: June 08, 2024.



Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Aracatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Aracatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email: CEUA: ceua.foa@unesp.br