

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
dissertação será
disponibilizado somente a
partir de 27/02/2028

BEATRIZ ALEXANDRELLI MACHADO

**Curcumina carregada em nanoestruturas à base de lipídeos
como terapia adjuvante ao tratamento periodontal não
cirúrgico: estudo microtomográfico, histomorfométrico e
imunoistoquímico**

Araçatuba –SP
2026



BEATRIZ ALEXANDRELLI MACHADO

**Curcumina carregada em nanoestruturas à base de lipídeos
como terapia adjuvante ao tratamento periodontal não
cirúrgico: estudo microtomográfico, histomorfométrico e
imunoistoquímico**

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, para obtenção
do título de Mestre.

Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr Edilson Ervolino
Coorientador: Prof. Dr. Glauco Rodrigues
Carmo Silveira

**Araçatuba –SP
2026**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M149c Machado, Beatriz Alexandrelli.
Curcumina carregada em nanoestruturas à base de lipídeos como terapia adjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico: estudo microtomográfico, histomorfométrico e imunoistoquímico / Beatriz Alexandrelli Machado. - Araçatuba, 2026
44 f. : 7 il. ; 1 tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia
Orientador: Prof. Edilson Ervolino
Coorientador: Prof. Glauco Rodrigues Carmo Silveira

1. Periodontite 2. Curcumina 3. Nanopartículas I.T.

Black D6
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico este trabalho à minha mãe, raiz que sustenta meu caminho e o chão que me faz voar. Nada disso seria possível sem o amor e a coragem que aprendi com ela.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me sustentou e me iluminou quando o caminho parecia escuro. Foi Ele quem acalmou meu coração e me deu coragem para seguir em frente, mesmo nos dias mais difíceis. Com amor e devoção, agradeço também a Nossa Senhora, mãe amorosa e doce, cuja presença sinto como um abraço silencioso, que me envolveu e protegeu durante toda essa caminhada, trazendo paz quando eu mais precisava.

À minha família, agradeço por ser o lugar ao qual sempre posso retornar. Obrigada por me permitirem ir longe, sabendo que, onde quer que eu estivesse, haveria um porto seguro à minha espera. Foram vocês que me ensinaram os valores que carrego com orgulho e que deram forma à pessoa e à profissional que me tornei. Agradeço especialmente à minha mãe, Kátia, que por tantos anos foi professora e me ensinou, pelo exemplo, o poder da educação em transformar vidas.

Agradeço, de coração, ao meu orientador, Professor Edilson Ervolino, por todo o apoio e pelos ensinamentos ao longo desse período. Sou imensamente grata pela paciência, pelo cuidado e pela dedicação que sempre demonstrou durante todo o meu mestrado. Não tenho palavras para descrever o quanto sua orientação exerceu um impacto positivo na minha formação como pessoa e profissional. Levarei comigo, com carinho e admiração, o exemplo de excelência que aprendi durante nossa convivência.

Aos professores Luan Felipe Toro e Henrique Rinaldi Matheus, meu muito obrigada por aceitarem o convite e pela disponibilidade em avaliar este trabalho. É uma honra contar com o olhar de vocês, profissionais que admiro profundamente e que são referências para mim.

Gostaria de agradecer a todo o grupo de pesquisa, porque sei que esse trabalho também é resultado da dedicação e do empenho de cada um de vocês. Obrigada por me receberem tão bem desde o começo e por toda a paciência que tiveram em me ensinar. Aprendi muito com cada um, e levo comigo todos os aprendizados que tive com vocês ao longo desse tempo.

Por fim, agradeço aos meus amigos: aqueles que permaneceram desde a graduação, com quem pude fortalecer laços e que continuaram sendo um apoio fundamental durante essa fase; e também àqueles que tive a oportunidade de conhecer graças ao mestrado, pessoas maravilhosas que tornaram todo esse período mais leve e feliz.

RESUMO

MACHADO, B. A. **Curcumina carregada em nanoestruturas à base de lipídeos como terapia adjuvante adjuvante à instrumentação supra e subgengival em ratas ovariectomizadas: estudo microtomográfico, histométrico, histopatológico e imunoistoquímico.** 2026. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que compromete os tecidos de suporte dos dentes e pode ser agravada por diversos fatores, incluindo a deficiência de hormônios como o estrogênio. A instrumentação supra e subgengival (ISS) é o tratamento padrão-ouro, mas pode apresentar limitações em áreas de difícil acesso ou em situações que comprometem a resposta ao tratamento. A curcumina, composto natural derivado da *Curcuma longa* possui propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e imunomodulatórias. Sua incorporação em nanopartículas lipídicas melhora suas propriedades físico-químicas e potencializa seus efeitos biológicos, representando um potencial adjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico. O objetivo desse estudo foi avaliar a efetividade da instrumentação supra e subgengival associada ao uso local de curcumina carregada em nanopartículas lipídicas no tratamento da periodontite experimental em ratas ovariectomizadas. No dia -60, 42 ratas foram submetidas à ovariectomia. No dia 0 foi instalada uma ligadura ao redor do primeiro molar inferior esquerdo para indução da periodontite experimental. No dia 14, a ligadura foi removida e as ratas foram distribuídas nos grupos: NTL, ISS, ISS-CURnpl. Em NTL não foi realizado nenhum tratamento local. Em ISS foi realizada a ISS e quatro sessões de irrigação com soro fisiológico. Em ISS-CURnpl foi realizada ISS e quatro sessões de irrigação com curcumina carregada em nanopartículas lipídicas. As irrigações foram efetuadas imediatamente à ISS e nos dias 2, 4 e 6 dias após a ISS. Foram realizadas eutanásias nos dias 21 e 42. As hemimandíbulas foram processadas para permitir que fossem realizadas análises microtomográfica, histomorfométrica e imunoistoquímica. O grupo NTL apresentou maior perda óssea alveolar e maior inflamação quando comparado com os demais grupos. O grupo ISS-CURnpl apresentou maior volume ósseo na região de furca, menor distância JCE-COA e maior porcentagem de tecido ósseo quando comparado aos grupos ISS e NTL. Adicionalmente, observou-se redução significativa no número de células TRAP-positivas e aumento da imunomarcação para TGF- β 1, indicando menor atividade osteoclástica e maior potencial reparador. Conclui-se que o uso local de curcumina carregada em nanopartículas lipídicas mostrou-se

efetivo como terapia adjuvante à ISS no manejo da PE em ratas ovariectomizadas.

Palavras-chave: periodontite; curcumina; nanopartículas.

ABSTRACT

MACHADO, B. A. **Curcumin carried in lipid-based nanostructures as an adjuvant to supra- and subgingival instrumentation in ovariectomized rats: a microtomographic, histometric, histopathological, and immunohistochemical study.** 2026. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

Periodontitis is a chronic inflammatory disease that compromises the supporting tissues of the teeth and can be aggravated by several factors, including hormone deficiencies such as estrogen. Supra- and subgingival instrumentation (SSI) is the gold standard treatment, but may have limitations in hard-to-reach areas or in situations that compromise treatment response. Curcumin, a natural compound derived from *Curcuma longa*, has anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, and immunomodulatory properties. Its incorporation into lipid nanoparticles improves their physicochemical properties and enhances their biological effects, representing a potential adjunct to non-surgical periodontal treatment. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of supra- and subgingival instrumentation associated with the local use of curcumin carried in lipid nanoparticles in the treatment of experimental periodontitis in ovariectomized rats. On day -60, 42 rats underwent ovariectomy. On day 0, a ligature was placed around the mandibular left first molar to induce experimental periodontitis. On day 14, the ligature was removed, and the rats were divided into the following groups: NTL, ISS, and ISS-CURnpl. In NTL, no local treatment was performed. In ISS, ISS and four saline irrigation sessions were performed. ISS and four curcumin irrigation sessions were performed in ISS-CURnpl. Irrigation was performed immediately after ISS and on days 2, 4, and 6 after ISS. Euthanasia was performed on days 21 and 42. The hemimandibles were processed for microtomographic, histomorphometric and immunohistochemistry analyses. The NTL group showed greater alveolar bone loss and inflammation compared to the other groups. The ISS-CURnpl group showed greater bone volume in the furcation region, a smaller CEJ-COA distance, and a higher percentage of bone tissue when compared to the ISS and NTL groups. Additionally, a significant reduction in the number of TRAP-positive cells and an increase in TGF- β 1 immunostaining were observed, indicating lower osteoclastic activity and greater reparative potential. In conclusion, the local use of curcumin delivered in lipid nanoparticles was effective as an adjunct therapy to ISS in the management of PE in ovariectomized rats.

Keywords: periodontitis; curcumin; nanoparticles.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curcumina carregada em nanopartículas lipídicas (CURnpl). (A) Esquema ilustrando as nanopartículas lipídicas contendo curcumina suspensão na microemulsão e evidência dos componentes de uma destas partículas. (B) Elétron-micrografia mostrando a morfologia das nanopartículas lipídicas contendo curcumina visualizadas ao microscópio eletrônico de transmissão 90 dias após sua preparação 17

Figura 2 - Delineamento experimental e principais procedimentos operatórios. (A) Linha do tempo mostrando os diferentes procedimentos experimentais executados em seus respectivos momentos nos grupos NLT, ISS, ISS-CURnpl. (B) Aspecto clínico do primeiro molar inferior após permanência da ligadura por duas semanas. (C) Primeiro molar inferior sendo submetido à instrumentação supra e subgengival. (D) Irrigação do primeiro molar inferior com curcumina carregada em nanopartículas lipídicas 20

Figura 3 - Tecido ósseo na região de furca do primeiro molar inferior. Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico da região de furca do primeiro molar inferior nos grupos NLT (A, D), ISS (B, E) e ISS-CURnpl (C, F) aos 7 dias (A - C) e 28 dias (D - F) pós remoção da ligadura. Abreviações e símbolos: asterisco, infiltrado inflamatório; oa, osso alveolar. Coloração: HE. Aumento original: 200x. Barras de escala: 150 µm 29

Figura 4 - Gráficos mostrando o volume ósseo na região de furca (PVO) (A) e a média da distância linear da junção cimento-esmalte até a crista óssea alveolar (JCE-COA) no primeiro molar inferior nos grupos NLT, ISS e ISS-CURnpl aos 28 dias pós remoção da ligadura. (B). Testes estatísticos: Shapiro-Wilk, Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. Abreviações: a, diferença estatisticamente significativa em relação aos 7 dias no mesmo grupo; A, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo NTL no mesmo período; B, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo ISS no mesmo período 31

Figura 5 - Gráfico mostrando a porcentagem de tecido ósseo (PTO) na região de furca do primeiro molar inferior nos grupos NLT, ISS e ISS-CURnpl aos 7 dias e aos 28 dias pós remoção da ligadura. (B) Testes estatísticos: Shapiro-Wilk, Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. Abreviações: a, diferença estatisticamente significativa em relação aos 7 dias no mesmo grupo; A, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo NTL no mesmo período; B, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo ISS no mesmo período 32

Figura 6 - Gráfico mostrando o número de células TRAP-positivas na região de furca do primeiro molar inferior nos grupos NLT, ISS e ISS-CURnpl aos 7 dias e aos 28 dias pós remoção da ligadura. (B) Testes estatísticos: Shapiro-Wilk, Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. Abreviações: a, diferença estatisticamente significativa em relação aos 7 dias no mesmo grupo; A, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo NTL no

mesmo período; B, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo ISS no mesmo período

33

Figura 7 - Gráfico mostrando a densidade de imunomarcacão para TGF β 1 na região de furca do primeiro molar inferior nos grupos NLT, ISS e ISS-CURnpl aos 7 dias e aos 28 dias pós remoção da ligadura. (B) Testes estatísticos: Shapiro-Wilk, Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. Abreviações: a, diferença estatisticamente significativa em relação aos 7 dias no mesmo grupo; A, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo NTL no mesmo período; B, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo ISS no mesmo período

34

LISTA DE TABELAS

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 grupos NTL, ISS, ISS-CURnpl. Legenda: Símbolos: a, diferença estatisticamente significativa em relação aos 7 dias no mesmo grupo; A, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo NTL no mesmo período; B, diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo ISS no mesmo período

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COA	Crista óssea alveolar
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CURnpl	Curcumina carregada em nanopartículas lipídicas
DLS	Dynamic Light Scattering
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE%	Eficiência de encapsulamento
EGR1	Early Growth Response 1
FOA-UNESP	Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
HE	Hematoxilina e eosina
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
ISS	Instrumentação supra e subgengival
JAK	Janus Kinase
JCE	Junção cimento-esmalte
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
ME-CUR	Microemulsão de curcumina
NF- κ B	Nuclear Factor kappa B
NTL	Nenhum tratamento local
OPG	Osteoprotegerina
PBS	Phosphate Buffered Saline
PE	Periodontite experimental
PTO-T	Porcentagem de tecido ósseo total
PVO	Porcentagem de volume ósseo
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B
RANKL	Receptor Activator for Nuclear Factor kappa B Ligand
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
TGF- β	Fator de crescimento transformador β
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa

TRAP

Fosfatase ácida resistente ao tartarato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Preparação da Curcumina Carreada em Nanopartículas Lipídicas	16
3.2 Delineamento Experimental	17
3.2.1 Animais, considerações éticas, cálculo amostral e randomização	17
3.2.2 Protocolo de habituação das ratas	18
3.2.3 Anestesia Geral	18
3.2.4 Ovariectomia	18
3.2.5 Grupos experimentais	19
3.2.6 Indução da periodontite experimental	20
3.2.7 Instrumentação supra e subgengival	21
3.2.8 Irrigação subgengival com solução salina fisiológica ou com curcumina carreada em nanopartículas lipídicas	21
3.2.9 Eutanásia e obtenção das amostras	21
3.2.10 Microtomografia computadorizada das amostras	22
3.2.11 Processamento das amostras	22
3.3 Análise dos Resultados	23
3.3.1 Análise microtomográfica computadorizada	23
3.3.2 Análises microscópicas	24
3.3.3 Análise histopatológica	24
3.3.4 Análise histométrica da porcentagem de tecido ósseo total (PTO-T) no sítio com PE	25
3.3.5 Análise imunoistoquímica	25
3.3.6 Análise estatística	25
4 RESULTADOS	27
4.1 Caracterização Físico-Química das Nanopartículas Lipídicas Contendo Curcumina	27
4.2 Aspecto Histológico dos Tecidos Periodontais nos Diferentes Grupos Experimentais	27
4.3 PVO na Região de Furca do Primeiro Molar Inferior	30
4.4 Distância da JCE – COA	30

4.5 PTO na Região de Furca do Primeiro Molar Inferior	31
4.6 Imunomarcação de TRAP	32
4.7 Imunomarcação de TGF- β 1	33
5 DISCUSSÃO	35
6 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS	45

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que compromete os tecidos responsáveis pela sustentação e proteção dos dentes¹. Casos severos dessa condição podem resultar em perda dentária significativa, dificultando a mastigação e afetando tanto a saúde nutricional quanto o bem-estar e a autoestima dos pacientes². Múltiplos fatores ambientais, comportamentais e sistêmicos podem influenciar a progressão e a severidade da periodontite³. A deficiência estrogênica decorrente da menopausa, por exemplo, tem sido associada à maior suscetibilidade à perda óssea alveolar e à piora do quadro periodontal^{4,5}. Em modelos experimentais com ratas ovariectomizadas, empregados para simular a deficiência hormonal característica da pós-menopausa, verificou-se que a ovariectomia agravou a perda óssea e reduziu a altura da crista alveolar diante da periodontite experimental (PE)⁶⁻⁸.

A instrumentação supra e subgingival (ISS) é considerada o tratamento padrão-ouro da periodontite, por promover a eliminação de depósitos bacterianos e fatores retentivos de placa⁹. Estudos clássicos demonstram sua efetividade em reverter e estabilizar a periodontite^{10,11}, e evidências em modelos animais também confirmam sua eficácia no tratamento da PE^{12,13}. Entretanto, apesar de comprovadamente eficaz, a ISS isolada pode ser insuficiente para desorganizar o biofilme em áreas de difícil acesso, como furcas, espaços interproximais, concavidades radiculares e bolsas profundas^{14,15}. Essa limitação torna-se ainda mais crítica em situações clínicas complexas, nas quais condições sistêmicas do paciente agravam a periodontite e comprometem a resposta ao tratamento, culminando em resultados inferiores ao esperado^{16,17}. Essas circunstâncias evidenciam a necessidade da adoção de estratégias terapêuticas adjuvantes à ISS, com o objetivo de potencializar seus efeitos e levar à resolução da doença.

A curcumina, o curcuminóide mais abundante encontrado no rizoma da *Curcuma longa*¹⁸, vem sendo amplamente utilizada como suplemento e aditivo alimentar devido aos seus efeitos benéficos à saúde¹⁹. Em razão de seu baixo custo, ampla aceitação e escassas reações adversas, esse fitoquímico tem atraído crescente interesse científico, sobretudo por apresentar propriedades biológicas anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e imunomodulatórias^{20,21}, as quais

desempenham um papel importante no tratamento de doenças, como a periodonite²²⁻²⁵. Em estudo *in vitro*, a curcumina inibiu de maneira dose-dependente a expressão gênica e a síntese proteica das citocinas TNF- α e IL-1 β em macrófagos RAW2G4.7 estimulados com lipopolissacarídeo (LPS) de *Porphyromonas gingivalis*²⁶. Ademais, em modelos experimentais *in vivo* foi observado que a curcumina reduziu citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6) e moléculas envolvidas na osteoclastogênese (RANK e RANKL) em ratos com PE induzida por ligadura^{27,28}. Contudo, apesar de ser considerada segura e isenta de efeitos tóxicos relevantes²⁹, sua aplicação terapêutica enfrenta limitações associadas às suas características físico-químicas, como baixa estabilidade, limitada biodisponibilidade, baixa solubilidade e curta meia-vida³⁰.

Com o intuito de superar esses obstáculos, a nanoformulação surgiu como uma abordagem inovadora, capaz melhorar a aplicação clínica e potencializar os efeitos biológicos de ativos naturais, como a curcumina³¹. Nos últimos anos, a nanotecnologia passou a exercer um papel de destaque nas ciências farmacêutica e biomédica³², visto que, por apresentarem características únicas, os medicamentos em escala nanométrica oferecem maior biodisponibilidade, solubilidade, proteção contra degradação, incremento da difusibilidade e permeabilidade³³⁻³⁷. Entre os sistemas nanoestruturados, destacam-se os nanocarreadores do tipo microemulsão e nanoemulsão, que consistem em dois líquidos imiscíveis, nos quais, com o auxílio de um ou mais tensoativos, um dos líquidos é disperso no outro sob a forma de esferas em escala nanométrica³⁸⁻⁴².

Apesar do potencial terapêutico da curcumina, seu uso como adjuvante no tratamento da periodontite, quando veiculada em nanoestruturas lipídicas, ainda é pouco explorado na literatura. Estudos pré-clínicos em modelos animais são fundamentais para investigar seus efeitos sobre a modulação imunoinflamatória e a preservação óssea, visando o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes sobretudo em condições de comprometimento sistêmico. A hipótese deste estudo estabelece que a combinação da instrumentação supra e subgengival com a irrigação de nanopartículas de curcumina (CURnpl) oferece benefícios adicionais em comparação à instrumentação supra e subgengival isolada na PE em ratas ovariectomizadas.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a aplicação local de curcumina carregada em nanopartículas lipídicas, associada à instrumentação supra e subgengival, é efetiva como terapia adjuvante no manejo da periodontite experimental em ratas ovariectomizadas, promovendo melhora significativa dos parâmetros ósseos e teciduais periodontais, com redução da reabsorção óssea e favorecimento do reparo.

REFERÊNCIAS

1. Fischer RG, Gomes Filho IS, Cruz SS, Oliveira VB, Lira-Junior R, Scannapieco FA, et al. What is the future of periodontal medicine? *Braz Oral Res.* 2021;35(Supp 2):e102. doi: 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0102.
2. Janakiram C, Dye BA. A public health approach for prevention of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2020;84(1):202-14. doi: 10.1111/prd.12337.
3. Elisabeth GS, Yuxi Z, Jiawen Y, Lei W, Sabine R, Joerg M. Systemic, lifestyle and environmental modifying factors in the pathogenesis of periodontitis. *J Periodontal Res.* 2025. doi: 10.1111/jre.70003.
4. Liang L, Yu JF, Wang Y, Ding Y. Estrogen regulates expression of osteoprotegerin and RANKL in human periodontal ligament cells through estrogen receptor beta. *J Periodontol.* 2008;79(9):1745-51. doi: 10.1902/jop.2008.070437.
5. Dutt P, Chaudhary S, Kumar P. Oral health and menopause: a comprehensive review on current knowledge and associated dental management. *Ann Med Health Sci Res.* 2013;3(3):320-3. doi: 10.4103/2141-9248.117926.
6. Amadei SU, Souza DM, Brandão AAH, Rocha RF. Influence of different durations of estrogen deficiency on alveolar bone loss in rats. *Braz Oral Res.* 2011;25(6):538-43. doi: 10.1590/s1806-83242011000600011.
7. Xu XC, Chen H, Zhang XI, Zhai ZJ, Liu XQ, Zheng XY, et al. Effects of oestrogen deficiency on the alveolar bone of rats with experimental periodontitis. *Mol Med Rep.* 2015;12(3):3494-502. doi: 10.3892/mmr.2015.3875.
8. Duarte PM, Gonçalves PF, Sallum AW, Sallum EA, Casati MZ, Humberto Nociti F Jr. Effect of an estrogen-deficient state and its therapy on bone loss resulting from an experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2004;39(2):107-10. doi: 10.1111/j.1600-0765.2004.00714.x.
9. Cobb CM, Sottosanti JS. A re-evaluation of scaling and root planing. *J Periodontol.* 2021;92(10):1370-8. doi: 10.1002/JPER.20-0839.
10. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol.* 1993;64(4):243-53. doi: 10.1902/jop.1993.64.4.243.

11. Listgarten MA. Similarity of epithelial relationships in the gingiva of rat and man. *J Periodontol.* 1975;46(11):677-80. doi: 10.1902/jop.1975.46.11.677.
12. Fernandes LA, Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Martins TM, et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in immunosuppressed rats. *J Clin Periodontol.* 2009;36(3):219-28. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01355.x.
13. Silveira GRC, Ganzaroli VF, Toro LF, Lopes-Pereira E, Costa LL, Mello-Neto JM, et al. Effectiveness of local use of green Propolis-loaded lipid nanoparticles as adjuvant therapy to scaling and root planing in the management of periodontitis in rats treated with zoledronate. *Int J Mol Sci.* 2024;25(22):12443. doi: 10.3390/ijms252212443.
14. Nagarakanti S, Gunupati S, Chava VK, Reddy BVR. Effectiveness of subgingival irrigation as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(7):ZE06-9. doi: 10.7860/JCDR/2015/13862.6210.
15. Abduljabbar T, Vohra F, Javed F, Akram Z. Antimicrobial photodynamic therapy adjuvant to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;17:138-46. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.11.008.
16. Pannuti CM, Alarcón MA, Ramírez Lemus GM, Yunes Fragoso P, Retamal-Valdes BS, Cornejo-Ovalle M, et al. Risk factors of periodontal disease: Latin America and the Caribbean Consensus 2024. *Braz Oral Res.* 2024;38(suppl 1):e118. doi: 10.1590/1807-3107bor-2024.vol38.0118.
17. Silveira GRC, Ganzaroli VF, Toro LF, Costa LL, Pereira RIL, Silva AB, et al. Brazilian Green Propolis carried in lipid-based nanostructures: a potent adjuvant therapy to non-surgical periodontal treatment in the management of experimental periodontitis. *Biomedicines.* 2025;13(7):1643. doi: 10.3390/biomedicines13071643.
18. Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Ramirez-Tortosa M. Curcumin and health. *Molecules.* 2016;21(3):264. doi: 10.3390/molecules21030264.
19. Xiao CJ, Yu XJ, Xie JL, Liu S, Li S. Protective effect and related mechanisms of curcumin in rat experimental periodontitis. *Head Face Med.* 2018;14(1):12. doi: 10.1186/s13005-018-0169-1.

20. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *Biomed Res Int*. 2014;2014:186864. doi: 10.1155/2014/186864.
21. Nunes YC, Mendes NM, Lima EP, Chehadi AC, Lamas CB, Haber JFS, et al. Curcumin: a golden approach to healthy aging: a systematic review of the evidence. *Nutrients*. 2024;16(16):2721. doi: 10.3390/nu16162721.
22. Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of turmeric (*Curcuma longa*). *J Altern Complement Med*. 2003;9(1):161-8. doi: 10.1089/107555303321223035.
23. Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev*. 2009;14(2):141-53.
24. Fadus MC, Lau C, Bikhchandani J, Lynch HT. Curcumin: an age old anti-inflammatory and anti-neoplastic agent. *J Tradit Complement Med*. 2016;7(3):339-46. doi: 10.1016/j.jtcme.2016.08.002.
25. Peng Y, Ao M, Dong B, Jiang Y, Yu L, Chen Z, et al. Anti-inflammatory effects of curcumin in the inflammatory diseases: status, limitations and countermeasures. *Drug Des Devel Ther*. 2021;15:4503-25. doi: 10.2147/DDDT.S327378.
26. Chen D, Nie M, Fan M-W, Bian Z. Anti-inflammatory activity of curcumin in macrophages stimulated by lipopolysaccharides from *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacology*. 2008;82(4):264-9. doi: 10.1159/000161127.
27. Zhou T, Chen D, Li Q, Sun X, Song Y, Wang C. Curcumin inhibits inflammatory response and bone loss during experimental periodontitis in rats. *Acta Odontol Scand*. 2013;71(2):349-56. doi: 10.3109/00016357.2012.682092.
28. Sha AM, Garib BT, Azeez SH, Gul SS. Effects of curcumin gel on osteoclastogenic bone markers in experimental periodontitis and alveolar bone loss in wistar rats. *J Dent Sci*. 2021;16(3):905-14. doi: 10.1016/j.jds.2020.09.015.
29. Soleimani V, Sahebkar A, Hosseinzadeh H. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: review. *Phytother Res*. 2018;32(6):985-95. doi: 10.1002/ptr.6054.

30. Sharifi S, Fathi N, Memar MY, Hosseiniyan Khatibi SM, Khalilov R, Negahdari R, et al. Anti-microbial activity of curcumin nanoformulations: new trends and future perspectives. *Phytother Res.* 2020;34(8):1926-46. doi: 10.1002/ptr.6658.
31. Rafiee Z, Nejatian M, Daeihamed M, Jafari SM. Application of different nanocarriers for encapsulation of curcumin. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(21):3468-97. doi: 10.1080/10408398.2018.1495174.
32. Verma V, Ryan KM, Padrela L. Production and isolation of pharmaceutical drug nanoparticles. *Int J Pharm.* 2021;603:120708. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120708.
33. Silva LO, Ferreira M, Soares L. Nanotechnology formulations designed with herbal extracts and their therapeutic applications: a review. *Chem Biodivers.* 2023;20(8):e202201241. doi: 10.1002/cbdv.202201241.
34. Mercan DA, Niculescu AG, Grumezescu AM. Nanoparticles for antimicrobial agents delivery: an up-to-date review. *Int J Mol Sci.* 2022;23(22):13862. doi: 10.3390/ijms232213862.
35. Boulaiz H, Alvarez PJ, Ramirez A, Marchal JA, Prados J, Rodríguez-Serrano F, et al. Nanomedicine: application areas and development prospects. *Int J Mol Sci.* 2011;12(5):3303-21. doi: 10.3390/ijms12053303.
36. Zhang L, Gu FX, Chan JM, Wang AZ, Langer RS, Farokhzad OC. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;83(5):761-9. doi: 10.1038/sj.clpt.6100400.
37. Jeevanandam J, Chan YS, Danquah MK. Nano-formulations of drugs: Recent developments, impact and challenges. *Biochimie.* 2016;128-129:99-112. doi: 10.1016/j.biochi.2016.07.008.
38. Motsoene F, Abrahamse H, Dhilip Kumar SS. Multifunctional lipid-based nanoparticles for wound healing and antibacterial applications: a review. *Adv Colloid Interface Sci.* 2023;321:103002. doi: 10.1016/j.cis.2023.103002.
39. Nikolaev B, Yakovleva L, Fedorov V, Li H, Gao H, Shevtsov M. Nano- and microemulsions in biomedicine: from theory to practice. *Pharmaceutics.* 2023;15(7):1989. doi: 10.3390/pharmaceutics15071989.
40. Garavand F, Jalai-Jivan M, Assadpour E, Jafari SM. Encapsulation of phenolic

compounds within nano/microemulsion systems: a review. *Food Chem* [Internet]. 2021;364:130376. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130376.

41. Porto AS, Almeida IV, Vicentini V. Nanoemulsões formuladas para uso tópico: estudo de síntese e toxicidade. *Rev Fitos*. 2020;14(4):513-27. doi 10.17648/2446-4775.2020.1060.

42. Choi SJ, McClements DJ. Correction to: Nanoemulsions as delivery systems for lipophilic nutraceuticals: strategies for improving their formulation, stability, functionality and bioavailability. *Food Sci Biotechnol*. 2023;32(9):1301. doi: 10.1007/s10068-020-00785-9.

43. Ervolino E, Olivo MB, Toro LF, Freire JOA, Ganzaroli VF, Guiati IZ, et al. Effectiveness of antimicrobial photodynamic therapy mediated by butyl toluidine blue in preventing medication-related osteonecrosis of the jaws in rats. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;40(103172):103172. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.103172.

44. Ervolino E, Statkiewicz C, Toro LF, Mello-Neto JM, Cavazana TP, Issa JPM, et al. Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. *Bone*. 2019;120:101-13. doi: 10.1016/j.bone.2018.10.014.

45. Molon RS, Mascarenhas VI, Avila ED, Finoti LS, Toffoli GB, Spolidorio DM, et al. Long-term evaluation of oral gavage with periodontopathogens or ligature induction of experimental periodontal disease in mice. *Clin Oral Investig*. 2016;20(6):1203-16. doi: 10.1007/s00784-015-1607-0.

46. Molon RS, Park CH, Jin Q, Sugai J, Cirelli JA. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microsc Res Tech*. 2018;81(12):1412-21. doi: 10.1002/jemt.23101.

47. Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β family: context-dependent roles in cell and tissue physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;2;8(5):a021873. doi: 10.1101/cshperspect.a021873.

48. Javelaud D, Mauviel A. Mammalian transforming growth factor-betas: Smad signaling and physio-pathological roles. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36(7):1161-5. doi: 10.1016/S1357-2725(03)00255-3.

49. Poniatowski ŁA, Wojdasiewicz P, Gasik R, Szukiewicz D. Transforming growth factor beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:137823. doi: 10.1155/2015/137823.
50. Kuru L, Griffiths GS, Petrie A, Olsen I. Changes in transforming growth factor beta 1 in gingival crevicular fluid following periodontal surgery. *J Clin Periodontol.* 2004;31(7):527-33. doi: 10.1111/j.1600-051x.2004.00521.x.
51. Souza SLS, Andrade PF, Silva JS, Tristão FSM, Rocha FA, Palioto DB, Grisi MFM, Taba M Jr, Novaes AB Jr. Effects of antimicrobial photodynamic therapy on transforming growth factor β 1 levels in gingival crevicular fluid. *Photomed Laser Surg.* 2013;31(2):65-71. doi: 10.1089/pho.2012.3328.
52. Li Y, Jiao J, Qi Y, Yu W, Yang S, Zhang J, et al. Curcumin: A review of experimental studies and mechanisms related to periodontitis treatment. *J Periodontal Res.* 2021;56(5):837-47. doi: 10.1111/jre.12914.
53. Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2010;53:55-69. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00347.x.
54. Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res.* 2003;38(4):380-7. doi: 10.1034/j.1600-0765.2003.00615.x.
55. Shi W, Ling D, Zhang F, Fu X, Lai D, Zhang Y. Curcumin promotes osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by inducing EGR1 expression. *Arch Oral Biol.* 2021;121:104958. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104958.
56. Xiong Y, Zhao B, Zhang W, Jia L, Zhang Y, Xu X. Curcumin promotes osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells through the PI3K/AKT/Nrf2 signaling pathway. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(7):954-60. doi: 10.22038/IJBMS.2020.44070.10351.