



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DO KOMBUCHA FERMENTADO EM
CHÁ VERDE NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM RATOS**

EVERTON CAVALCANTE DA SILVA

FORTALEZA

2023

EVERTON CAVALCANTE DA SILVA

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DO KOMBUCHA FERMENTADO EM
CHÁ VERDE NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Delane Viana Gondim.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S579e Silva, Everton Cavalcante da.

Efeitos da administração sistêmica do kombucha fermentado em chá verde na periodontite experimental em ratos / Everton Cavalcante da Silva. – 2023.
45 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Ma. Delane Viana Gondim.

1. Chá de kombucha. 2. Probióticos. 3. Periodontite. 4. Perda óssea alveolar. I. Título.

CDD 617.6

EVERTON CAVALCANTE DA SILVA

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DO KOMBUCHA FERMENTADO EM
CHÁ VERDE NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM RATOS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia da Universidade Federal
do Ceará, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Odontologia. Área de concentração:
Clínica Odontológica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Delane Viana
Gondim.

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Delane Viana Gondim (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Luane Macêdo de Sousa
Faculdade Paulo Picanço

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, que pela Sua infinita graça, bondade e misericórdia me manteve de pé e me sustentou nos mais difíceis momentos. Sem dúvidas, não teria alcançado essa importante etapa sem Sua boa, perfeita e agradável vontade.

À minha **família**, em especial meus pais, **Francisco Erivaldo** e **Cilda Carmem**, à minha irmã, **Maria Eduarda**, e à minha avó, **Rozimar Cavalcante**, que constituem a base de tudo que sou, que sempre me deram suporte e incentivo para lutar pelos meus sonhos e que me ensinaram sobre respeito e amor.

À minha querida orientadora, Prof^a. Dr^a. **Delane Gondim**, pela paciência, atenção, cuidado, empatia e todos os ensinamentos profissionais e pessoais. Sem dúvidas, toda a sua dedicação e interesse possibilitaram a realização deste sonho.

Ao meu orientador de graduação e de iniciação científica, Prof. Dr. **Mario Lisboa**, pelo incentivo, ensinamento e oportunidade que iniciou minha caminhada na pesquisa científica.

À Prof^a. Dr^a. **Karuza Alves** por toda a dedicação e ajuda. Sem sua disponibilidade, tudo isso não seria possível.

Às amigas e companheiras de grupo científico que o mestrado me presenteou, **Luane Macedo**, **Carolina Figueiredo** e **Lorena Vieira**, pelos conselhos, apoio e ajuda.

Ao aluno de iniciação científica e também um grande amigo, **Marco Gabriel**, por toda a disponibilidade, proatividade e companheirismo na vida e, em especial, durante todo o período de experimentações.

À toda a **equipe do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA)**, bem como a todos os **funcionários do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM)** e da **Universidade Federal do Ceará (UFC)**.

Aos meus amigos **Lucas Oliveira**, **Gabriel Damasceno** e **Cynthia Belchior** que foram minha rede de apoio emocional e estiveram comigo durante todo esse tempo.

Às minhas amigas, **Isabel Leite** e **Amanda Pinheiro**, por toda a ajuda e suporte desde a graduação.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração do Kombucha (KB) fermentado em chá verde no estabelecimento e desenvolvimento da periodontite experimental em ratos. Sessenta ratos Wistar machos (200-250 g) foram distribuídos em dois sets experimentais com 5 grupos (n=6): PE (submetidos à periodontite experimental); CV (tratados com chá verde); KB4, KB8 e KB12 (tratados com KB com 4, 8 ou 12 dias de fermentação). A hemimaxila direita do grupo PE foi definida como o grupo Controle (C). O KB ou o chá verde foram administrados diariamente (5 ml/kg) até o fim do experimento. No 28º dia de administração, os animais foram submetidos à indução da periodontite experimental por meio de ligadura. Após a eutanásia (39º dia), hemimaxilas, rins, fígados, intestinos e sangue foram coletados. Metade das amostras de hemimaxilas foram dissecadas, coradas em azul de metileno, fotografadas e radiografadas. As imagens obtidas foram exportadas e analisadas, onde foram avaliadas a variação da área de perda óssea alveolar (Δ POA) e a variação da densidade radiográfica óssea (DRO) em região de furca. A outra metade foi descalcificada e processada para análises histopatológicas juntamente com as demais estruturas. O sangue foi usado para determinação de marcadores de hepatotoxicidade. Houve um aumento da Δ POA no grupo PE, quando comparado ao grupo C. Os grupos tratados com chá verde ou KB apresentaram uma menor Δ POA em relação ao grupo PE. Ademais, somente KB8 apresentou reduziu a Δ POA em relação ao CV. Quanto aos tons de cinza, percebeu-se uma redução da variação da DRO nos grupos CV e KB4, quando comparados a PE. Na análise histomorfométrica, os grupos CV, KB4, KB8 e KB12 apresentaram menor área de perda óssea e de ligamento periodontal, quando comparados ao grupo PE. Na análise histopatológica, os grupos CV e KB8 tiveram escores de destruição óssea maiores que o grupo C. CV e KB12 apresentaram escores de presença de infiltrado inflamatório mais elevados que o grupo C. Por fim, os escores de destruição do cimento estiveram mais elevados em KB12, quando comparado ao do grupo C. Os escores de edema e hemorragia nos sinusóides hepáticos foram maiores nos grupos PE e CV em relação aos demais grupos. Ademais, CV apresentou aumento dos níveis de marcadores de hepatotoxicidade quando comparado ao grupo PE. Grupos que receberam KB apresentaram redução dos níveis séricos dessas enzimas em relação ao CV. Por fim, quando comparados aos grupos PE e CV, os grupos tratados com KB apresentaram um aumento da quantidade de células mucosas intestinais de forma dependente do tempo de fermentação. Portanto, conclui-se que tanto chá verde, quanto o KB em variados dias de fermentação, apresentaram efeito antirreabsortivo na periodontite experimental, além disso, o KB não induziu alterações hepáticas ou renais, estando associado à uma maior proteção da mucosa intestinal, além de apresentar um potencial terapêutico para o controle da periodontite.

Palavras-chaves: Chá de kombucha; Probióticos; Periodontite; Perda óssea alveolar.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of administering Kombucha (KB)' fermented in green tea on the establishment and development of experimental periodontitis in rats. Sixty male Wistar rats (200-250 g) were distributed in two experimental sets with 5 groups (n=6): PE (submitted to experimental periodontitis); CV (treated with green tea); KB4, KB8 and KB12 (KB-treated with 4, 8 or 12 days of fermentation). The right hemimaxilla of the PE group was defined as the Control group (C). KB or green tea were administered daily (5 ml/kg) until the end of the experiment. On the 28th day of administration, the animals underwent experimental periodontitis induction by means of ligature. After euthanasia (39th day), hemimaxillas, kidneys, livers, intestines and blood were collected. Half of the hemimaxilla samples were dissected, stained with methylene blue, photographed and radiographed. The images obtained were exported and analyzed, where the variation in the area of alveolar bone loss (Δ POA) and the variation in radiographic bone density (DRO) in the furcation region were evaluated. The other half was decalcified and processed for histopathological analysis along with the other structures. Blood was used for determination of hepatotoxicity markers. There was an increase in Δ POA in the PE group when compared to the C group. The groups treated with green tea or KB had a lower Δ POA compared to the PE group. Furthermore, only KB8 presented reduced Δ POA in relation to CV. As for the shades of gray, a reduction in the DRO variation was observed in the CV and KB4 groups, when compared to PE. In the histomorphometric analysis, the CV, KB4, KB8 and KB12 groups showed a smaller area of bone loss and periodontal ligament when compared to the PE group. In the histopathological analysis, the CV and KB8 groups had higher bone destruction scores than the C group. CV and KB12 had higher scores for the presence of inflammatory infiltrate than the C group. Finally, the cementum destruction scores were higher in KB12, when compared to group C. Edema and hemorrhage scores in the hepatic sinusoids were higher in the PE and CV groups compared to the other groups. Furthermore, CV showed increased levels of hepatotoxicity markers when compared to the PE group. Groups that received KB showed a reduction in serum levels of these enzymes in relation to CV. Finally, when compared to the PE and CV groups, the groups treated with KB showed an increase in the amount of intestinal mucous cells in a manner dependent on the fermentation time. Therefore, it is concluded that both green tea and KB on different days of fermentation had an anti-resorptive effect on experimental periodontitis, in addition, KB did not induce liver or kidney changes, being associated with greater protection of the intestinal mucosa, in addition to present a therapeutic potential for the control of periodontitis.

Keywords: Kombucha tea; Probiotics; Periodontitis; Alveolar bone loss.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Delineamento experimental.....	17
FIGURA 2 – Imagem das hemimaxilas dos grupos C, PE, CV, KB4, KB8 e KB12.....	22
FIGURA 3 – Área de perda óssea em mm ² observada nos animais dos grupos C, PE, CV, KB4, KB8 e KB12.....	23
FIGURA 4 – Radiografias das hemimaxilas dos animais do grupo C, PE, CV, KB4, KB8 e KB12.....	24
FIGURA 5 – Densidade radiográfica óssea observada nos animais do grupo PE, CV, KB4, KB e KB12.....	25
FIGURA 6 – Fotomicrografia do periodonto de suporte dos segundos molares superiores dos animais do grupo C, PE, CV, KB4, KB8 e KB12	26
FIGURA 7 – Área de perda de tecido ósseo e de ligamento periodontal observada nos animais do grupo C, PE, CV, KB4, KB8 e KB12.....	27
FIGURA 8 – Fotomicrografias do intestino delgado em porções duodenais.....	30
FIGURA 9 – Análise quantitativa do número de células mucosas duodenais observadas nos animais do grupo PE, CV, KB4, KB e KB12.....	31
FIGURA 10 – Nível plasmático da atividade das enzimas ALT e AST.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
a.C.	Antes de Cristo
C	Hemimaxilas direitas (não manipulada) dos animais do grupo PE
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CV	Animais submetidos à periodontite experimental e que receberam administração diária de chá verde
DRO	Densidade radiográfica óssea
EDTA	Ácido etilendiamínio tetra-acético
H&E	Hematoxilina e Eosina
i.p.	Intra-peritoneal
IL	Interleucina
JCE	Junção cimento-esmalte
KB	Kombucha
KB12	Animais submetidos à periodontite experimental e que receberam administração diária de KB fermentado por doze dias
KB4	Animais submetidos à periodontite experimental e que receberam administração diária de KB fermentado por quatro dias
KB8	Animais submetidos à periodontite experimental e que receberam administração diária de KB fermentado por oito dias
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
PE	Animais submetidos à periodontite experimental na hemimaxila esquerda
pH	Potencial de hidrogênio
RANK	Recetor ativador do fator nuclear kappa-B
RAR	Raspagem e alisamento corono-radicular
SCOBY	<i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> (Fator de necrose tumoral)
ΔPOA	Variação da perda óssea alveolar

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Análise histopatológica semiquantitativa das hemimaxilas nos grupos experimentais.....	27
TABELA 2 – Análise histopatológica semiquantitativa de rim e fígado nos grupos experimentais.....	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1 Doença periodontal.....	10
1.2 Probióticos.....	11
1.3 Administração sistêmica de Kombucha.....	12
2. OBJETIVOS.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1 Cálculo amostral.....	16
3.2 Aspectos éticos.....	16
3.3 Delineamento experimental.....	16
3.4 Preparo e administração da bebida.....	18
3.5 Indução da periodontite experimental.....	18
3.6 Análise morfométrica.....	18
3.7 Análise radiográfica.....	19
3.8 Análise histomorfométrica e histopatológica.....	19
3.9 Análise dos marcadores séricos de hepatotoxicidade.....	20
3.10 Análise estatística.....	20
4. RESULTADOS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÕES.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
ANEXOS.....	45