AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS NA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM RATOS WISTAR MACHOS

Amanda Schaia Rocha (PIBIC/Fundação Araucária), Edmar Myoshi (Orientador), e-mail: edmar@uepg.br.
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Farmácia.

Fisiologia, Fisiopatologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central.

Palavras-chave: Doença periodontal, estresse oxidativo, agrotóxicos.

Resumo

A Doença Periodontal (DP) é uma infecção bucal e afeta os tecidos de suporte dentário podendo levar a reabsorção óssea e perda do elemento dentário. A sua prevalência na zona rural é de 97,7%, quando comparados aos moradores da zona urbana apresentam 2,1 vezes maior de apresentar a DP. O objetivo do estudo foi avaliar a possível associação entre a exposição crônica ao Paraquat e o desenvolvimento da DP. Foram utilizados 12 animais por grupo, divididos em 2 grupos para os seguintes tratamentos: Água, Paraquat. Para indução da ligadura, houve a inserção do fio de algodão nos segundos molares, bilateralmente e no SHAM, houve a luxação com sonda exploratória dos mesmos. Para a análise foi feita a eutanásia por guilhotina e retirada as hemimandíbulas para análise morfométrica da perda óssea. A ligadura promoveu perda óssea alveolar que foi maior nos animais tratados com Paraquat. Como conclusão, tem-se que o Paraquat pode potencializar o desenvolvimento da doença periodontal.

Introdução

A Doença Periodontal (DP) é uma condição inflamatória crônica, causada pelo acúmulo de bactérias predominantemente gram-negativas que afetam os tecidos de suporte dentário, podendo levar a reabsorção óssea alveolar e consequentemente a perda do elemento dentário. A sintomatologia é característica do processo inflamatório, a qual inclui: dor, calor, edema, vermelhidão e sangramento gengival. (JUNIOR, NOMURA, POLITANO, 2007).

Esta afecção é multifatorial, apresentando o biofilme bacteriano como fator etiológico primário. No entanto, sua progressão é influenciada por diversos fatores como os ambientais e comportamentais. O fator ambiental de grande relevância é a microbiota diversa dispersa no biofilme, que inicia a destruição periodontal. Enquanto aos comportamentais estão inclusos, o tabagismo, hábitos de higiene bucal que atuam como modificadores da apresentação da doença (CAYANA, 2010; KARASNEH, et al., 2017).

O organismo ao detectar a presença de patógenos periodontais ativa uma cadeia de eventos na tentativa de combater a agressão, dentre elas a ativação de células fagocitárias. Em condições patológicas, ocorre a ativação excessiva das células fagocitárias, gerando a produção descontrolada de espécies reativas de oxigênio (ERO), e a ocorrência de danos teciduais (AZAMBUJA, 2016).

Alguns estudos sugerem que a exposição a agrotóxicos aumenta o risco do desenvolvimento de DP. A prevalência da doença periodontal para moradores da zona rural é de 97,7% (MACEDO, 2006). Quando comparados aos moradores da zona urbana, eles apresentam uma chance de 2,1 vezes maior de apresentar a DP (ZHANG, et al., 2014). E esse fato pode ocorrer devido à falta de acesso aos serviços odontológicos e a baixa frequência de higiene pessoal (MACEDO, 2006).

Outro fator que tem sido estudado como um fator de risco para o desenvolvimento doenças são os agrotóxicos. Os agrotóxicos são amplamente utilizados pelos agricultores para o controle de pragas e doenças infecciosas (PADILHA, 2018). Sua utilização extensiva tem se tornado um problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento como o Brasil (ARAÚJO, et al., 2006).

Esses compostos químicos têm obtido destaque em artigos científicos devido a possível associação entre a sua exposição crônica e o desenvolvimento de doenças nos humanos, como a infertilidade, déficit de atenção, anomalias congênitas, Doença de Parkinson e diferentes tipos de câncer (MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2017). As classes mais utilizadas de agrotóxicos são os herbicidas, fungicidas e inseticidas.

O Paraquat é um herbicida de contato amplamente utilizado, devido ao baixo custo, alta eficácia e ausência de poluição do solo (SERRA; DOMINGOS; PRATA, 2003). Porém, tem alta toxicidade para humanos e animais, podendo causar intoxicações e até a morte (ALMEIDA, 2007). O mecanismo de ação do Paraquat não está bem elucidado, tem sido proposto que ele atua mediante o mecanismo de indução do estresse oxidativo.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a possível associação entre a exposição crônica ao Paraquat e o desenvolvimento de doença periodontal pela análise da perda óssea.

Materiais e Métodos

A pesquisa utilizou ratos machos da linhagem Wistar (12 por grupo) com três meses de idade e com peso inicial de aproximadamente 290 gramas. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado (22ºC), com ciclo claro-escuro de 12 horas com início às 7h e alimentados com ração e água à vontade. Foram utilizados 48 animais, e toda a pesquisa seguiu as recomendações da COBEA (Código Brasileiro de Experimentação Animal) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UEPG (protocolo 040/2016).

Os animais foram divididos em 2 grandes grupos: um grupo SHAM (falso operado) e o Ligadura. Posteriormente, esses grupos foram subdivididos em 2, de acordo com o tratamento, sendo eles: Controle/Água (veículo) e Paraquat (1mg/kg). O tratamento descrito foi administrado via gavagem pelo período de 8 semanas, e as soluções foram preparadas diariamente para a administração.

A doença periodontal foi induzida por ligadura, e o procedimento foi realizado no 1° dia. Antes do procedimento os ratos foram anestesiados com Quetamina (90 mg/kg) e Xilazina (10mg/kg) pela via intraperitoneal. Após anestesia, com o auxílio do aparato de Doku, foi inserido um fio de algodão com a sonda exploratória odontológica, nos primeiros molares inferiores dos animais. A técnica da ligadura causa a retenção mecânica e acúmulo de bactérias no fio de algodão, simulando a formação do biofilme da DP (OZ; PULEO, 2011). O grupo SHAM, falso operado, passará pelo mesmo procedimento anestésico, porém, haverá apenas a luxação dos dentes de interesse sem a inserção do fio de algodão. Após 48 horas da indução da DP por ligadura, os tratamentos serão iniciados por administrações via oral (gavagem).

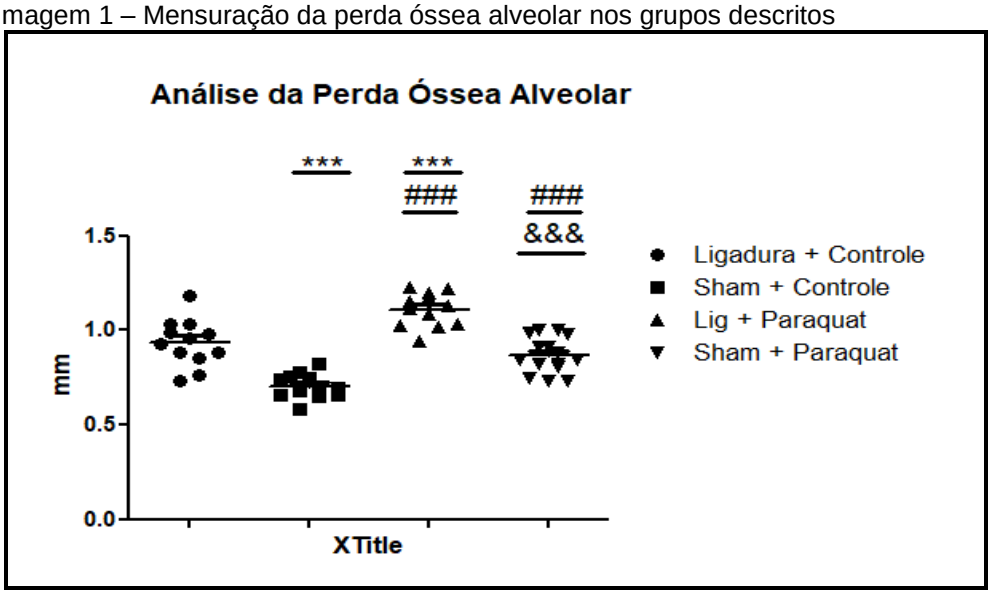
Após o período de tratamento de 8 semanas, os ratos foram submetidos a eutanásia pelo método de guilhotina e as hemimandíbulas foram removidas. Para a mensuração da perda óssea pela análise morfométrica, as peças foram cozidas, limpas com auxílio de gaze estéril, imersas em hipoclorito a 1% por 4 horas, e

coradas com azul de metileno (1 g/100 mL) para demarcar a junção amelocementária. Logo após foram observadas com lupa estereoscópica e digitalizadas por câmera fotográfica. Nas imagens digitais, foi feita a análise pelo software Image J, a partir de medidas lineares (mm) no centro de cada raiz (molares inferiores) seguindo seu longo eixo, da junção amelocementária.

Resultados e Discussão

Os resultados da mensuração da perda óssea foram analisados através do teste ANOVA de uma via seguido do post-hoc de Tukey. Na Imagem 1, pode-se observar que houve diferença com o grupo Ligadura + Controle e Ligadura + Paraquat (p≤ 0,001), demonstrando que o Paraquat foi capaz de potencializar o processo da ligadura. Além disso, houve diferença entre o Sham + Controle e Sham + Paraquat e não houve diferença entre o Sham + Paraquat e o Ligadura + Controle, demonstrando que o Paraquat isoladamente causou a perda óssea alveolar espontânea, comparando-se até com o efeito isolado da ligadura.

Imagem 1 – Mensuração da perda óssea alveolar nos grupos descritos



Fonte: A autora.

A imagem 1 faz referência a perda óssea em milímetros na análise macroscópica da perda óssea alveolar. Os valores foram obtidos a partir do grupo Sham + Controle (N=12), Sham + Paraquat (12), Ligadura + Controle (N=12), Ligadura + Paraquat (N=12). Os dados foram analisados através de ANOVA de uma via e *post-hoc* de *Tukey.* Houve diferença do grupo Ligadura + Controle e Sham + Controle, representado pela simbologia (*** p≤ 0,001). Também houve diferença entre Ligadura + Controle e Ligadura + Paraquat (*** p≤ 0,001). Diferença também encontrada entre Sham + Controle com Ligadura Paraquat e Sham Paraquat (### p≤ 0,001). Além disso, houve resultado entre Ligadura Paraquat e Sham + Paraquat (&&& p≤ 0,001).

Em relação ao tratamento, demonstrou-se que a intervenção proposta foi capaz de causar a perda óssea alveolar espontânea, devido, provavelmente a indução do estresse oxidativo causado pela exposição ao Paraquat e que esta exposição pode estar envolvida com a maior prevalência de DP na Zona Rural.

Conclusões .

Com isso, pode-se concluir que a exposição ao Paraquat foi capaz de potencializar o efeito causado pela Ligadura, e ainda, foi capaz de causar perda óssea alveolar espontânea.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Professor Edmar Myoshi por todos esses anos de ensinamentos e confiança, aprendi muito com o senhor nesses anos de iniciação científica. Muito obrigada Lillian, Anderson, Maryana e a todos que estiveram envolvidos com essa pesquisa e que contribuíram de alguma forma para o seu sucesso.

Obrigada a Fundação Araucária por disponibilizar as bolsas para a pesquisa, a minha família que sempre foi e será minha base, agradeço também a Deus por estar comigo em todos os caminhos.

Referências

ALMEIDA, G.L.; *et al.* The risks and injuries in the paraquat intoxication in domestic animals. Cienc. Rural vol.37 n°5 Santa Maria, Sept./Oct. 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000500051>.

ARAÚJO, A.J.; *et al.* Multiple exposure to pesticides and impacts on health: a cross-section study of 102 rural workers, Nova Friburgo, Rio de Janeiro State, Brazil, 2006. Disponível em: < https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1413-81232007000100015&script=sci_arttext&tlng=pt> .

AZAMBUJA, C.B. Impacto da Doença Periodontal sobre os níveis de estresse oxidative em doentes renais crônicos. Porto Alegre, 2016. Disponível em: < http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/152665/001012742.pdf?sequence=1> .

CAYANA, E.G. efeito da administração intermitente do PTH (1- 34) na periodontite experimental em ratas expostas à fumaça de cigarros. Piracicaba – São Paulo, 2010. Disponível em: < http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/290845/1/Cayana_EzymarGomes_D.pdf>

JUNIOR, R.P.; NOMURA, L.M.; POLITANO, G.T. Periodontal disease and obstetrical complications: is there a risk relationship? Rev. Bras. Ginecol. Obstet. Vol. 29 n°7. Rio de Janeiro, July 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032007000700008>.

KARASNEH, J.A.; *et al.* Effect of cigarette smoking on subgingival bacteria in healthy subjects and patients with chronic periodontitis. BMC Oral Health, 2017; 17(64). Disponível em: < http://www.medscape.com/viewarticle/878955_2> .

MACEDO, T. C. N.; *et al.* Factors related to periodontal disease in a rural population. Brazil Oral Research, (2006); 20, 257- 262. Disponível em: < https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/6903/1/Mac%C3%AAdo,%20Ta%C3%ADze%20Cassia%20Nascimento%20de.pdf> .

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. Archives of toxicology, Springer, v. 91, n. 2, p. 549–599, 2017. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27722929> .

SERRA, A.; DOMINGOS, F.; PRATA, M.M. Intoxicação por Paraquat. Acta Médica Portuguesa 2003; 16: 25-32. Disponível em: < https://actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/viewFile/1141/793>.

ZHANG, Q.; et al. Prevalence and Predictors for periodontitis among adults in China, 2010. Global Health Action, (2014); 7,0. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090366/>.