



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2022

PRODUÇÃO DE IFN-G POR CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO DE INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CULTIVADAS COM O EXTRATO DAS FOLHAS DE *LIPPIA ORIGANOIDES KUNTH*

Thamiles Rodrigues dos Santos¹; Isaac Suzart Gomes Filho²; Liliane Gomes Brito³; Angélica Maria Lucchese⁴ e Soraya Castro Trindade⁵

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: thamilerosdrigues7@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: isuzart@gmail.com
3. Participante do Núcleo de Pesquisa, Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar, Departamento Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lilianeoliveira@outlook.com
4. Coordenadora do Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos – LAPRON; Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: angelica.lucchese@gmail.com.
5. Coordenadora do Núcleo de Pesquisa, Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar, Departamento Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: soraya@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Periodontite; Imunomodulação; Compostos bioativos de plantas.

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença dos tecidos de proteção e suporte dos dentes em resposta à presença de um biofilme subgingival disbiótico na superfície dentária. Esses eventos resultam na destruição de fibras colágenas e osso alveolar, podendo causar a perda de dentes (ZENOBIA & HAJISHENGALLIS, 2015; NEWMAN, 2016). O tratamento consiste principalmente na remoção mecânica deste biofilme, e por meio do uso de agentes químicos antimicrobianos em dentifrícios e colutórios (FERREIRA, 2017; OLIVEIRA, 2018).

No entanto, o uso indiscriminado de medicamentos tem gerado resistência antimicrobiana, que é uma preocupação mundial. A ciência, além de alertar para o perigo da medicação descontrolada, tem o papel de buscar novos componentes que possuam propriedades antimicrobianas (WHO, 2012). O potencial terapêutico das variadas espécies de plantas são uma alternativa natural e sustentável para o controle de microorganismos causadores de diversas doenças (VOGEL *et al*, 2011).

Moura (2020) em um estudo sobre o efeito imunomodulador da *L. origanoides* Kunth, observou níveis aumentados de IFN-g no sangue de indivíduos com periodontite quando cultivados no extrato da *L. origanoides* Kunth. O IFN-g é uma citocina capaz de recrutar macrófagos e de ativar assim, a resposta imunológica inata.

Sabendo que o desenvolvimento da periodontite, além da presença de biofilme, depende das respostas do sistema imunológico do hospedeiro (KINANE; STATHOPOULOU; PAPAPANOU, 2017), e que a *L. origanoides* Kunth apresenta um potencial efeito imunomodulador, o presente estudo investigou *in vitro* a produção de

IFN-g por células mononucleares do sangue periférico de indivíduos com e sem periodontite, cultivadas com o extrato das folhas desta planta.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), obedecendo a Resolução 466/12, e número do parecer: 1.344.223. Os participantes foram recrutados na clínica odontológica da UEFS. A classificação da periodontite foi feita pelo critério PAGE; EKE (2007) e atualizado por EKE et al. (2012).

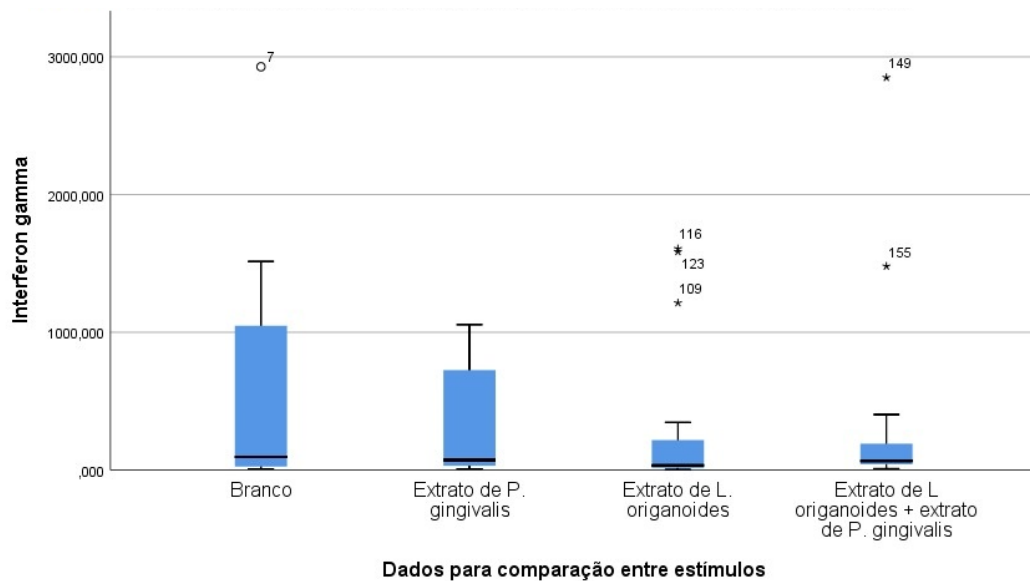
O extrato das folhas de *L. origanoides* Kunth foi diluído em metanol (Synth, Diadema, SP, Brasil)/DMSO (Dimetilsulfóxido) (Synth) (1:3) a 3% e filtrado com membrana estéril de diâmetro de 0,22µm para obtenção das alíquotas para os testes. Estas alíquotas foram submetidas a dosagem de proteínas, realizada com a técnica de Lowry modificada e os resultados obtidos pela leitura em espectrofotômetro.

Em um fluxo laminar, para cada participante 2mL de sangue foram colocados em cada poço de uma placa de cultivo celular (COSTAR, Nova Iorque, EUA). Realizou-se o cultivo com 10 µg/mL dos extratos das plantas solubilizado em metanol/DMSO 3% (1:3), com 0,5µg/mL de extrato imunogênico de *P. gingivalis* ATCC 33277 (NCBI Taxonomy ID: 431947), produzido de acordo com o protocolo padronizado por Trindade et al. (2008), ou com os dois extratos simultaneamente. Um poço apenas com sangue constitui o controle negativo e um com células cultivadas com 10 µg/ml do mitógeno *Pokeweed*, o controle positivo. O cultivo foi realizado em estufa com 5% de CO₂ a 37°C, e após 48h, as placas foram centrifugadas para obtenção do sobrenadante. A distribuição dos dados quanto à quantificação e IFN-g foi verificada com o teste de Kolmogorov-Smirnov.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de IFN-g no sobrenadante de cultura das células de indivíduos com e sem periodontite. Quando realizada a comparação entre as diversas condições de estímulo na cultura (Gráfico 1), também não foi observada diferença estatisticamente significativa, com exceção das células cultivadas com o mitógeno, que tiveram a sua produção aumentada.

Gráfico 1: Comparação dos níveis de interferon g (IFN-g) entre as diversas formas de estímulos utilizados no cultivo das células de sangue total humanas.



Vale salientar que o pequeno tamanho da amostra pode ter influenciado no poder da análise estatística, determinando a ausência de significância entre os grupos. Assim, embora sem significância estatística, é possível observar uma diminuição na produção de IFN-g pelas células cultivadas em presença do extrato de *L. origanoides* Kunth.

A *L. origanoides* possui a atividade antimicrobiana comprovada, tendo alto valor terapêutico, e por isso, é bastante usada como anti-inflamatório, analgésico e expectorante na medicina popular brasileira (Ministério da Saúde, 2018). Apesar deste potencial terapêutico, os mecanismos de ação dos compostos da *Lippia origanoides* Kunth ainda não foram totalmente estudados. Esse entendimento é importante para implementação desses fitoterápicos nos tratamentos de diversas doenças.

Contudo, no presente estudo sobre a produção de INF-g por células do sangue periférico cultivadas no extrato das folhas de *Lippia origanoides* Kunth, não foi observada diferença estatisticamente significativa. Salienta-se também que a produção de IFN-g é um fenômeno típico da imunidade adaptativa, que requer a participação de linfócitos T, com o reconhecimento de antígenos proteicos, que são menos concentrados em extratos feitos com metabólitos secundários das plantas são menos concentrados em extratos feitos com metabólitos secundários das plantas (DE ARAÚJO-SOUZA et al., 2020). Dessa forma, estudos investigando outras citocinas e com outras formas de extração devem ser realizados para investigação do possível efeito imunomodulador desta espécie de planta.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

A presença de antígenos de *P. gingivalis* e de compostos do extrato das folhas de *L. origanoides* não favorece a produção de IFN-g por células do sangue periférico humanas.

REFERÊNCIAS

- ZENOBIA, C.; HAJISHENGALLIS, G. 2015. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol* 2000. 69(1):142–159.
- NEWMAN, M.G.; TAKEI, H.; KLOKKEVOLD, P.R.; CARRANZA, F. 2016. Carranza Periodontia Clínica, 12ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier.

- FERREIRA, I.M.; MACHADO, W.A.S.; MACHADO, R.C. 2017. Avaliação dos hábitos de higiene oral e prevalência do uso de antissépticos bucais por jovens de 18-25 anos. **Braz J Periodontol.** 27(3):16-22.
- OLIVEIRA, A.R.M.F. et al. 2018. Leaf anatomy and essential oil production of *Lippia* native species. **Brazilian J Agric.** 93(3):324-335.
- WHO. 2012. The Evolving Threat of Antimicrobial Resistance—Options for Action. **WHO Press**, Geneva, Switzerland.
- VOGEL, N. W. 2011. “Assessment of the antimicrobial effect of three plants used for therapy of community-acquired urinary tract infection in Rio Grande do Sul (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology.** 137(3):1334–1336.
- KINANE, D.F.; STATHOPOULOU, P.G.; PAPAPANOU, P.N. 2017. Periodontal diseases. **Nat Rev Dis Primers.** 3(17038).
- PAGE, R.C.; EKE, P.I. 2007. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. **Journal Periodontology.** 78, p.1387-1399.
- BRASIL. (2018) Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS: *Lippia sidoides* Cham, Verbenaceae (Alecrim-pimenta) – Brasília: Ministério da Saúde, p.72.
- DE ARAÚJO-SOUZA, P. S. et al. 2020. Differential interferon- γ production by naive and memory-like CD8 T cells. *Journal of leukocyte biology*, 108(4):1329–1337.