

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
” VICTOR BABEȘ” TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ
DEPARTAMENTUL I: DISCIPLINA DE MEDICINĂ
DENTARĂ PREVENTIVĂ, COMUNITARĂ ȘI SĂNĂTATE
ORALĂ**

ALEXA VLAD-TIBERIU



**STUDII PRIVIND ACTIVITATEA BIOLOGICĂ A
PREPARATELOR NATURALE PE BAZĂ DE ULEIURI
ESEŢIALE ÎN PATOLOGIA ORALĂ**

REZUMAT

Coordonator științific

**PROF. UNIV. HABIL. DR. JUMANCA DANIELA
ELISABETA**

Timișoara

2023

REZUMAT

Bolile orale, cum ar fi caria dentară și boala parodontală, reprezintă încă o problemă importantă de sănătate publică în majoritatea țărilor. Preocupările științifice actuale sunt încă în căutarea unor soluții pentru îmbunătățirea sănătății orale prin prevenirea factorilor etiologici care duc la apariția bolilor orale. Deși medicina pe bază de plante există de mii de ani, în ultimele decenii, odată cu progresul biotehnologiei în domeniul medical și farmaceutic, cercetarea modului în care plantele și extractele de plante acționează asupra organismului uman a făcut un adevărat pas înainte.

Fitoterapia, denumită și fitomedicină sau medicină botanică, se referă la plante, preparate din plante și produse finite din plante care includ plante ca și componente active. Un tip de extract de plante care a fost utilizat de secole pentru a trata o varietate de probleme medicale și dentare este reprezentat de uleiurile esențiale (EO). Aceștia sunt metaboliți secundari care au proprietăți antibacteriene, antifungice și antioxidante și sunt produși de o varietate de plante. De-a lungul anilor, unele dintre aceste uleiuri esențiale s-au dovedit a fi eficiente în medicina dentară prezentând activități biologice precum proprietăți antibacteriene, antioxidante, analgezice, sedative, antiinflamatorii, spasmolitice sau anestezice.

Cu toate acestea, în ultimii ani, s-a încercat din ce în ce mai mult să se relanseze utilizarea plantelor în scopuri medicale. Unele dintre motivele pentru creșterea acestei tendințe ar putea fi anumite efecte secundare ale medicamentelor sintetice, lipsa unor metode eficiente de tratament curativ pentru mai multe tipuri de boli cronice, rezistența microbiană și o creștere extraordinară a investițiilor în cercetarea și dezvoltarea farmaceutică. Numeroase plante medicinale sunt utilizate astăzi sub diferite forme, fie prescrise de un medic sau farmacist, fie din proprie inițiativă. Ele pot fi utilizate ca medicație complementară, prin asociere cu medicamente de sinteză sau independent.

Având în vedere faptul că utilizarea plantelor medicinale, în special sub formă de extracte de uleiuri esențiale, a luat amploare în ultimii ani în toate domeniile medicale, iar cariile dentare și afecțiunile parodontale sunt încă unele din cele mai răspândite boli cronice, chiar dacă pot fi prevenite în mare măsură, este important să cunoaștem implicațiile exacte pe care le au uleiurile esențiale asupra sănătății orale și să le folosim conform unor ghiduri medicale specifice, în conformitate cu dovezile științifice.

În această teză s-a urmărit studierea potențialului antibacterian al uleiurilor

esențiale și al nanoemulsiilor naturale asupra bacteriilor implicate în proliferarea bolilor orale, precum și examinarea rolului citotoxic și/sau antiproliferativ al compușilor naturali asupra liniilor celulare orale și cutanate. Un alt obiectiv a fost acela de a testa preparatele naturale ca posibil tratament preventiv sau complementar pentru a elimina aderența și formarea biofilmului pe aparatele ortodontice fixe. Importanța acestui subiect pentru interesele internaționale, naționale și regionale ale echipei de cercetare derivă din apariția pe scară largă a cariilor dentare și a bolilor parodontale. Aceste afecțiuni sunt boli cronice prevalente în diverse zone geografice și sunt principalele cauze care contribuie la durerea dentară și la pierderea dinților. În consecință, descoperirea unor abordări alternative sau suplimentare pentru prevenire și tratament are o importanță mondială.

Studiile cuprinse în această teză au fost efectuate pentru a investiga activitatea antibacteriană sinergică/antagonistă a uleiurilor esențiale și a preparatelor naturale împotriva *Streptococcus mutans* dezvoltat în cavitatea bucală, de a examina principalii compuși chimici activi din preparatele naturale pe bază de uleiuri esențiale, cum ar fi bergamotă, portocală și cuișoare. De asemenea, studiile din această teză examinează potențialul antimicrobian, antifungic, antiproliferativ și citotoxic al uleiurilor esențiale în domeniul sănătății orale, precum și testarea potențialei activități preventive și curative a acestora asupra arcurilor folosite în timpul tratamentului ortodontic.

Prin urmare, datele din aceste studii ar putea deschide calea pentru îmbunătățirea strategiilor în stomatologia preventivă. Aceasta ar putea implica încorporarea preparatelor naturale ca produse suplimentare de igienă orală pentru a îmbunătăți sănătatea orală și calitatea generală a vieții, în special în rândul persoanelor cu dispozitive ortodontice fixe. Acest lucru este deosebit de important, având în vedere provocările cu care se confruntă acești pacienți în menținerea unei bune sănătăți orale.

Teza va fi împărțită în două secțiuni principale.

Partea generală prezintă stadiul actual al cunoștințelor. Această secțiune oferă, de asemenea, un rezumat care detaliază proprietățile curative ale uleiurilor esențiale derivate din trei soiuri de plante: bergamotă, portocală și cuișoare. Ea include o scurtă prezentare generală care descrie rolul biofilmului în cariile dentare, bolile parodontale și infecțiile fungice, care se numără printre cele mai des întâlnite boli orale. În plus, explorează impactul acestora asupra calității generale a vieții și subliniază imperativul global de a descoperi abordări terapeutice mai eficiente pentru a le reduce.

Secțiunea specială va investiga posibilele avantaje ale utilizării uleiurilor esențiale derivate din cuișoare, bergamotă și portocală ca potențiali agenți preventivi

sau terapeutici în domeniul sănătății orale. Această secțiune include patru studii ale căror rezultate au fost publicate în reviste indexate în Clarivate Web of Science.

Studiul 1 prezentat în capitolul 1 se concentrează asupra unui domeniu de interes semnificativ în medicina dentară preventivă, explorând în mod specific potențiala utilizare a uleiurilor esențiale (EOs) ca alternativă naturală la produsele chimice pentru inhibarea creșterii *Streptococcus mutans* în cavitatea bucală în vederea îmbunătățirii sănătății orale. Pentru a atinge acest obiectiv, am efectuat caracterizarea chimică a patru uleiuri esențiale (scorțișoară, cuișoare, bergamotă și portocală) utilizând cromatografia în fază gazoasă cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS). Ulterior, am efectuat teste in vitro pentru a evalua impactul acestora asupra *S. mutans* (ATCC 25175).

Rezultatele studiului nostru au demonstrat efectele antibacteriene ale uleiului esențial de cuișoare (CLEO), ale uleiului esențial de bergamotă (BEO) și ale uleiului esențial de portocale (OEO) asupra *S. mutans*. Aceste uleiuri esențiale au fost apoi încorporate în preparate naturale de tip emulsie pentru o potențială utilizare în medicina dentară. Pentru a înțelege mai bine efectele sinergice sau antagoniste care decurg din constituenții chimici ai acestor uleiuri esențiale, am pregătit emulsii binare și terțiare și le-am testat într-un mediu îmbunătățit cu salivă împotriva *S. mutans*.

Rezultatele testelor noastre pe salivă au evidențiat un efect sinergic în cazul utilizării emulsiilor terțiare care conțin componentele active ale uleiurilor esențiale, ceea ce a condus la inhibarea creșterii *S. mutans*.

Studiul 2 urmărește să investigheze proprietățile antimicrobiene ale unor preparate naturale care conțin uleiuri esențiale de cuișoare, portocale și bergamotă împotriva unui spectru larg de microorganisme care cauzează infecții în organism, inclusiv *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* și *Haemophilus influenza*. Cercetarea a presupus crearea, caracterizarea și evaluarea a trei tipuri de preparate naturale: emulsii monocomponente (cuișoare - ECEO, bergamotă - EBEO și portocală - EOEO), trei combinații binare [E(BEO/CEO), E(BEO/OEO), E(CEO/OEO)] și o emulsie terțiară E(OEO/BEO/CEO). Scopul a fost acela de a înțelege efectele antimicrobiene și potențialele interacțiuni sinergice sau antagoniste dintre compușii uleiului esențial pentru a recomanda un preparat antimicrobian optim.

Rezultatele au arătat că emulsia monocomponentă ECEO a prezentat o activitate antimicrobiană, în timp ce EOEO și EBEO nu au inhibat creșterea tulpinilor

testate. În cazul emulsiilor binare sau terțiare [E(BEO/CEO), E(CEO/OEO), E(OEO/BEO/CEO)], efectul antimicrobian al uleiului de cuișoare a fost sporit datorită interacțiunilor sinergice dintre componentele chimice ale uleiurilor esențiale.

În cadrul **studiului numărul 3**, accentul principal este pus pe examinarea impactului preparatelor naturale sub formă de emulsii derivate din uleiuri esențiale (EOs) extrase din Citrus bergamia (bergamotă-BEO), Citrus sinensis (portocală-OEO) și Syzygium aromaticum (cuișoare-CEO) asupra diferitelor tipuri de celule. Această investigație cuprinde atât celule sănătoase, și anume keratinocite umane imortalizate (HaCaT) și fibroblaste gingivale umane primare (HGF), cât și linii celulare tumorale umane, în special celule de melanom uman (A375) și de carcinom scuamos oral (SCC-4). Evaluarea include examinarea viabilității celulare și a morfologiei celulare.

Rezultatele acestei cercetări arată că emulsia CEO (ECEO) a prezentat un efect citotoxic dependent de doză atât asupra celulelor sănătoase (HaCaT și HGF), cât și asupra celor tumorale (A375 și SCC-4). Emulsia OEO (EOEO) a crescut procentele de viabilitate celulară atât pentru celulele HaCaT, cât și pentru cele A375, în timp ce a avut un impact antiproliferativ la cea mai mare concentrație asupra celulelor HGF și SCC-4. Emulsia BEO (EBEO) a redus procentul de viabilitate al celulelor tumorale SCC-4. La combinarea OEO cu CEO într-un amestec binar în cadrul unei formulări emulsionate, s-a înregistrat o inhibiție sporită a viabilității celulelor tumorale. Emulsia binară E(BEO/OEO) a demonstrat un efect antiproliferativ asupra sănătății orale și a celulelor tumorale, cu un impact minim asupra celulelor cutanate.

În plus, testele neinvazive efectuate pentru a evalua siguranța acestor emulsii pe piele au indicat că acești compuși nu modifică în mod semnificativ parametrii naturali ai pielii și pot fi considerați siguri pentru pielea umană.

Studiul final numărul 4 a avut ca obiectiv investigarea impactului preparatelor naturale care conțin uleiuri esențiale (EO) asupra prevenirii aderenței biofilmului pe dispozitivele ortodontice. Această cercetare implică utilizarea a cinci materiale distincte pentru arcuri ortodontice, fiecare posedând caracteristici dimensionale identice: oțel inoxidabil cu înveliș estetic epoxidic, aliaj de cupru și nichel (Cu-NiTi), aliaj de titan și molibden (TMA), oțel inoxidabil (SS) și aliaj de nichel-titan (NiTi).

Experimentul a avut două faze distincte în care s-au folosit uleiuri esențiale.

În cadrul abordării preventive, arcurile ortodontice au fost imersate în preparatele naturale create în conformitate cu subcapitolul 1.2.5. Aceste arcuri au fost apoi plasate într-un mediu de cultură care conține tulpini de Staphylococcus sau

Streptococcus pentru a observa efectele lor preventive prin inhibarea sau reducerea acestora.

În cadrul abordării terapeutice, arcurile ortodontice contaminate cu bacterii au fost tratate cu emulsii conținând uleiuri esențiale, iar rezultatele au fost monitorizate la diferite intervale de timp.

Cel de-al doilea obiectiv al studiului a urmărit să investigheze interacțiunea dintre compușii uleiului esențial și proteinele esențiale care se găsesc în bacteriile patogene precum *S. aureus* și *S. mutans*, despre care se știe că se dezvoltă în cavitatea bucală. Pentru a realiza acest lucru, a fost utilizată docarea moleculară ca un instrument rațional, bazat pe calculator. Scopul acestuia a fost de a confirma rezultatele experimentelor tradiționale de laborator și de a accelera înțelegerea interacțiunilor potențiale dintre compușii de ulei identificați și proteinele din aceste bacterii, în special proteinele cheie responsabile de patogenitatea lor.

Rezultatele studiului 4 indică faptul că arcurile ortodontice realizate din oțel cu înveliș estetic epoxidic sunt cele mai eficiente materiale în ceea ce privește protecția antimicrobiană împotriva tulpinilor de *Streptococcus*, cu o rată maximă de inhibiție de 28,82% observată la aparatele estetice SS. Cu toate acestea, atunci când vine vorba de măsuri preventive împotriva stafilococului, doar arcurile ortodontice din aliaj de titan și molibden (TMA) au prezentat efecte de inhibiție pentru toate emulsiile testate, cu o rată maximă de inhibiție de 29,44%. Pe de altă parte, aliajele pe bază de CuNiTi nu s-au dovedit potrivite pentru tratamentele preventive cu uleiuri esențiale, deoarece nici creșterea bacteriilor *Staphylococcus* și *Streptococcus* nu a fost inhibată pentru niciuna dintre combinațiile de amestecuri de uleiuri. Aliajele pe bază de oțel inoxidabil (SS) au prezentat un bun efect protector împotriva *Streptococcus*, cu rate de inhibiție pozitive observate atât pentru preparatele cu un singur component, cât și pentru amestecurile binare și terțiare. Cu toate acestea, nu s-au dovedit a fi eficiente pentru prevenirea contaminării cu *Staphylococcus*.

În ceea ce privește tratarea arcurilor ortodontice după ce acestea au fost contaminate cu tulpini de *Streptococcus* și *Staphylococcus*, emulsia terțiară a demonstrat cea mai mare eficacitate asupra patru din cinci tipuri de arcuri testate. Excepție a făcut arcul pe bază de CuNiTi, care a prezentat în continuare rate scăzute de inhibiție pentru ambele tulpini (ratele de inhibiție pentru *Streptococcus* au variat între 4,24% și 7,69%, iar ratele de inhibiție pentru *Staphylococcus* au variat între 6,50% și 12,93%).

Studiul a confirmat faptul că combinarea diferitelor componente chimice din

cele trei uleiuri esențiale analizate conduce la efecte antimicrobiene sinergice, care sporesc în mod colectiv capacitatea lor de a inhiba creșterea bacteriană în cavitatea bucală.

Ținând cont de rezultatele observate pentru ambele tulpini bacteriene și pentru cele cinci materiale diferite de arcuri ortodontice examinate, recomandarea noastră este de a opta pentru arcuri din oțel inoxidabil cu înveliș estetic epoxidic sau din aliaj de titan și molibden (TMA) atunci când se ia în considerare acumularea de placă în timpul tratamentului ortodontic. Ca măsură preventivă în timpul tratamentului ortodontic, sugerăm utilizarea amestecului terțiar de uleiuri esențiale de bergamotă (BEO), cuișoare (CEO) și portocală (OEO), deoarece acesta oferă alegerea optimă pentru obținerea celui mai înalt nivel de protecție antibacteriană.

În concluzie, rezultatele acestei teze afirmă capacitățile antibacteriene ale preparatelor naturale care conțin uleiuri esențiale de bergamotă, cuișoare și portocale, împreună cu componentele chimice individuale ale acestora, împotriva anumitor microorganisme relevante pentru patologia orală. Mai mult, eficacitatea lor devine și mai pronunțată atunci când aceste preparate naturale sunt utilizate împreună, prezentând un impact sinergic în prevenirea acumulării de placă pe diferite tipuri de arcuri ortodontice.

În cele din urmă, această teză de doctorat servește ca punct de lansare pentru explorarea unor noi căi de cercetare în evaluarea altor uleiuri esențiale (EO) și a asocierilor acestora, împreună cu dezvoltarea altor preparate naturale concepute pentru scopuri atât preventive, cât și terapeutice în abordarea bolilor parodontale și a cariilor dentare.

Având în vedere proprietățile antimicrobiene și antiproliferative stabilite ale uleiurilor esențiale și emulsiilor examinate împotriva unor microorganisme specifice și a diferitelor linii celulare, investigațiile viitoare ar trebui să fie orientate spre înțelegerea potențialului lor inhibitor împotriva altor microorganisme implicate în dezvoltarea cariilor și în proliferarea infecțiilor orale. Aceste cercetări ar trebui să cuprindă, de asemenea, explorarea efectelor acestora asupra diferitelor linii celulare relevante pentru patologiile orale.

În plus, accentul ar trebui să se îndrepte spre identificarea soluțiilor optime pentru excipienți și a metodelor de comercializare a uleiurilor esențiale în produsele de igienă orală, cum ar fi apele de gură și pasta de dinți, făcându-le disponibile populației largi pentru a fi utilizate conform unor ghiduri medicale specifice, în conformitate cu dovezile științifice actuale.