



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



BRUNO CÉSAR DE VASCONCELOS GURGEL

Cirurgião-Dentista

**INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA
ALVEOLAR EM PERIODONTITE EXPERIMENTAL:
*AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do Título
de Mestre em Clínica Odontológica - Área de
Periodontia.

PIRACICABA

2003

BRUNO CÉSAR DE VASCONCELOS GURGEL

Cirurgião-Dentista

**INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA
ALVEOLAR EM PERIODONTITE EXPERIMENTAL:
*AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do Título
de Mestre em Clínica Odontológica - Área de
Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio de Toledo

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sérgio de Toledo

Profa. Dra. Rosemary Adriana C. Marcantonio

Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Suplente:

Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum

PIRACICABA

2003

UNIDADE	<u>Be</u>
Nº CHAMADA	<u>TUNICAMP</u>
	<u>G962i</u>
V	EX
TOMBO BCI	<u>54149</u>
PROC.	<u>124103</u>
C	☐
D	☒
PREÇO	<u>R\$11,00</u>
DATA	<u>09/06/03</u>
Nº CPD	

CM00185479-6

BIB ID 293698

Ficha Catalográfica

G962i

Gurgel, Bruno César de Vasconcelos.

Influência do meloxicam sobre a perda óssea alveolar em periodontite experimental: avaliação histométrica em ratos. / Bruno César de Vasconcelos Gurgel. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.
xiii, 85f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio de Toledo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Doença periodontal. 2. Agentes antiinflamatórios. 3.

Prostaglandinas. I. Toledo, Sérgio de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

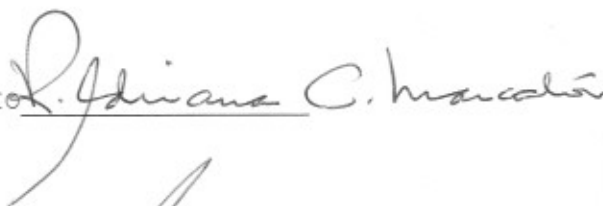
Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 10 de Fevereiro de 2003, considerou o candidato BRUNO CÉSAR DE VASCONCELOS GURGEL aprovado.

1. Prof. Dr. SERGIO DE TOLEDO



2. Profa. Dra. ROSEMARY ADRIANA CHIÉRICI MARCANTONIO



3. Prof. Dr. MÁRCIO ZAFFALON CASATI



**“...Pai, agora agradeço tudo o que tenho
E até mesmo a vida que te ofereço
Mesmo que eu seja pequeno, me sinto tão grande
Pois sei que O tenho em meu coração...”**

DEDICATÓRIA

A **DEUS**, em primeiro lugar, meu Pai, Mestre e eterno Orientador. Agradeço-lhe pela minha vida, por tudo o que sou e que tenho. Agradeço por estar sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Meu caminho foi traçado e iluminado segundo a Tua vontade.

Aos meus amados pais, **Sérgio e Cristina**, por todo o amor, carinho e confiança que dedicaram em toda trajetória da minha vida. Sempre apoiaram todas as minhas decisões, tanto na vida pessoal como profissional. A vocês, minha gratidão.

Às minhas irmãs, **Elisa e Luciana**, por todo amor, amizade e cumplicidade que compartilhamos, souberam compreender minha ausência e me deram todo apoio nesta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Sérgio de Toledo**, pela amizade e inestimável contribuição na minha formação de pós-graduação. Por ter me concedido a oportunidade de trabalhar com a sua pessoa e admirá-lo como amigo e orientador.

Ao Prof. Dr. **Antonio Wilson Sallum**, co-orientador deste trabalho, pelo exemplo de profissionalismo, experiência e dedicação à carreira acadêmica.

Ao Prof. Dr. **Enilson Antônio Sallum**, pela amizade, incentivo e oportunidades concedidas durante o curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. **Francisco Humberto Nociti Jr**, pela contribuição científica nas fases de execução deste trabalho, pelo exemplo de profissionalismo, e, sobretudo, pela amizade e atenção dispensadas durante o curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. **Márcio Zafallon Casati**, pela contribuição científica e a pela amizade conquistada neste período.

Ao Prof. Dr. **Antônio Fernando Martorelli de Lima**, pela contribuição científica fornecida durante o curso de pós-graduação.

A sra. **Eliete Aparecida Ferreira Lima**, secretária da área de Periodontia, pela amizade, simplicidade, competência e pelos inmensuráveis auxílios prestados durante o curso de pós-graduação.

Aos meus avós, **Raymundo e Zuleide, César** (in Memoriam) e **Therezinha** (in Memoriam), que sempre torceram pelo meu sucesso e que se alegram por tudo que alcancei até hoje.

Aos meus padrinhos, **Mário e Fátima**, aos demais tios, primos e familiares pelo apoio e incentivo.

A minha namorada **Letícia Rocha** que, com paciência e carinho, tenta superar a distância que nos separa e ao mesmo tempo nos une.

AGRADECIMENTOS

Ao excelentíssimo senhor Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz, magnífico reitor da Universidade Estadual de Campinas.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp na pessoa do seu diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho e Diretor Associado, Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida.

Ao Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho, coordenador geral dos cursos de pós-graduação da FOP/Unicamp.

À Prof^a. Dr^a. Brenda Paula Figueiredo A. Gomes, coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da FOP/Unicamp.

Ao Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, responsável pela área de Periodontia da FOP/Unicamp.

À Prof^a. Dr^a. Maria Cecília Ferraz de Azevedo Veiga, responsável pelo Biotério e pela disciplina de Fisiologia da FOP/Unicamp.

Ao Sr. Wanderley e Sra. Zuleica pelos cuidados dispensados aos animais.

À srta. Mariana Piovezan Fugolin, técnica do laboratório de Periodontia, pela ajuda indispensável na execução da parte laboratorial deste trabalho. À Fabiana Facco Casarotti, pela colaboração durante a fase laboratorial.

Ao Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes e à Profa. Dra. Silvana Pereira Barros, do Departamento de Morfologia, pela colaboração durante a fase laboratorial. À Maria Aparecida Santiago Varela, técnica do Laboratório de Histologia.

A Helydia Maria Neves, funcionária da Clínica de Especialização, pela simpatia e ajuda dispensada.

Aos professores Eduardo Dias de Andrade, Silvana Pereira Barros e José Ricardo Barbosa Albergaria, pela contribuição e sugestões realizadas durante o Exame de Qualificação.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Aos amigos Murilo Faria, Pollyana Barbosa, Frederico Gurgel, Camilla Almeida, Ricardo Dias, Edmaro Alexandre, Bruno Lima, Ana Karina Maciel, Dayse Bezerril, Valcácia Nunes pela amizade e agradável convívio durante minha vida.

Aos meus professores de graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Lélia Souza, Leão Pereira Pinto, Cristina Medeiros e Inês Rocha por toda colaboração e incentivo durante a minha vida acadêmica.

Aos meus amigos André Ulisses, Rodrigo Souza, Pablo Ortiz, José Carlos, Ricardo Abreu e Rhonan Silva, por terem compartilhado momentos agradáveis, onde aprendemos muito com o convívio diário dentro do mesmo ambiente.

Aos amigos Domício Neto, Ana Katarina, Luís Henrique Baptista, Alessandro Gonçalves, Eduardo Oliva, Isana Álvares, Cristina Azevedo, Grace Mendonça, Stenyo Tavares, Rafael Navarro, Mauro Martins, Karina Devito, Janaína Araújo, Maria Luiza, Emilena Xisto, Juliana Moura, Alex Souza, Edwin Contreras, Cícero Gadê, Patrícia Freitas, Karlla Almeida por tornarem o convívio sempre mais agradável.

Aos amigos Roberto e Laura Andrade, Marcelo e Jussara, Patrícia Jardim e a todos do Grupo de Oração Universitário da Unesp-Araraquara por todo o apoio e momentos de oração que compartilhamos juntos.

Aos meus novos grandes amigos de turma e futuros doutores, Ângela, Antonieta, Cristina, Fernando, João, Juliana, Luciana, Patrícia, Poliana, Renato, Robert, Suzana e aos amigos da periodontia Laerte, Bruno e Marcelo, pela amizade e companheirismo, tornando o convívio dentro da pós-graduação sempre melhor.

À Poliana, João, Ângela, Patrícia e demais colegas pela incalculável ajuda durante o período experimental deste trabalho. Ao João, pela qualidade das fotografias.

Meus sinceros agradecimentos...

SUMÁRIO

CAPÍTULOS	Pg.
RESUMO	01
ABSTRACT	02
1 INTRODUÇÃO	03
2 REVISÃO DA LITERATURA	06
2.1 Etiopatogenia da Doença Periodontal	07
2.2 Doença Periodontal Experimental em Ratos	08
2.3 Resposta Imunoinflamatória Tecidual	10
2.4 Metabólitos do Ácido Araquidônico	11
2.5 Regulação do Metabolismo Ósseo	13
2.6 Reabsorção Óssea na Doença Periodontal	17
2.7 Prostaglandinas como Marcadores Bioquímicos na Doença Periodontal	18
2.8 Antiinflamatórios Não Esteroidais na Doença Periodontal	21
2.8.1 Estudos em animais	23
2.8.2. Estudos em humanos	30
2.9 Inibidores Seletivos da Cicloxigenase-2	35
2.10 Meloxicam	38
3 PROPOSIÇÃO	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	41

4.1 Animais Utilizados	42
4.2 Anestesia e Colocação das Ligaduras	42
4.3 Constituição dos Grupos	45
4.4 Processamento Histológico	46
4.5 Análise Histométrica	47
4.6 Análise Estatística	49
5 RESULTADOS	50
5.1 Observações Clínicas	51
5.2 Resultados Histométricos	52
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÃO	70
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
9 ANEXOS	82

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, histometricamente, a influência de uma droga antiinflamatória não esteroidal seletiva para a ciclooxigenase-2, meloxicam, sobre a perda óssea inter-radicular bem como o seu efeito residual após a suspensão da administração. O experimento foi realizado em 75 ratos machos adultos Wistar com doença periodontal induzida por ligadura, divididos aleatoriamente em 5 grupos com 15 animais cada, recebendo diariamente, via subcutânea, os seguintes tratamentos: ratos nos grupos 1A e 1B receberam o volume de 1ml/kg de NaCl 0,9%, por 15 dias e 45 dias respectivamente, servindo como controle; os animais do grupo 2A e 2B receberam 3mg/kg do meloxicam, nos mesmos períodos experimentais e os do grupo 3 receberam 3mg/kg do meloxicam, cuja administração foi suspensa aos 15 dias e NaCl 0,9% administrado por mais 30 dias. A avaliação histométrica mostrou que houve uma diminuição estatisticamente significativa da reabsorção óssea inter-radicular para os grupos tratados com o meloxicam, tanto aos 15 dias quanto aos 45 dias após a administração da droga ($P < 0,05$). Não se observou qualquer efeito remanescente da droga sobre a perda óssea após a suspensão da sua administração ($P > 0,05$). Os resultados indicaram que o inibidor seletivo de COX-2 foi eficiente na diminuição da reabsorção óssea apenas durante a sua administração. A modulação da resposta do hospedeiro promovida pelo meloxicam associada a periodontite induzida pode ser considerada um possível adjunto à terapia da doença periodontal inflamatória quando utilizado de forma contínua.

ABSTRACT:

The objective of this study was to evaluate, histometrically, the influence of a nonsteroidal anti-inflammatory drug, selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on inter-radicular bone loss as well as the post-treatment effect after administration withdrawal. This experiment was performed in 75 male, adults Wistar rats with ligature-induced periodontal disease, randomly divided in 5 groups with 15 animals each, receiving daily injections, subcutaneous, the following treatments: rats from groups 1A and 1B received 1ml/kg of saline solution for 15 and 45 days respectively, performing as control group; animals from group 2A and 2B received 3mg/kg of meloxicam, in the same periods and animals from group 3 also received 3mg/kg of meloxicam, whose drug administration was withdrawn on 15 days and saline solution administered for more 30 days. The histometric evaluations showed that there was a statically significant bone loss reduction for treated groups in both 15 and 45 days ($P < 0,05$). It was not observed any statically significant remaining effect on bone loss after drug withdrawal ($P > 0,05$). The results indicated that the selective COX-2 inhibitor was efficient on bone loss reduction only during the continued administration. The host response modulation promoted by meloxicam associated with ligature-induced periodontitis may be considered as a possible adjunct to therapy of inflammatory periodontal disease.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

1 INTRODUÇÃO

As doenças periodontais são infecções dos tecidos de proteção e suporte dos dentes que envolvem uma complexa interação entre as bactérias e o hospedeiro, sofrendo influência ainda de fatores genéticos e ambientais (SOCRANSKY *et al.*, 1984).

Na doença periodontal, as bactérias presentes no sulco gengival liberam enzimas e toxinas bacterianas (lipopolissacarídeos) que ativam as células inflamatórias nos tecidos periodontais, resultando na liberação de citocinas e fatores locais (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ e FNT α). Tais fatores podem atuar diretamente sobre os osteoblastos, inibindo sua função e reduzindo o número de células funcionais bem como ainda estimulando a formação e ativação dos osteoclastos. Toda esta cascata de eventos resulta na destruição do tecido conjuntivo periodontal e osso alveolar (PAGE & KORNMAN, 1997, SCHWARTZ *et al.*, 1997). Desta forma, o hospedeiro apresenta tanto uma ação protetora como destrutiva sobre os tecidos periodontais (KINANE & LINDHE, 1999).

Com a intenção de interromper a progressão da doença periodontal, tratamentos tradicionais têm objetivado minimizar a presença dos periodontopatógenos na região do sulco/bolsa periodontal. Tais tratamentos incluem a raspagem e o alisamento radicular, controle do biofilme dental, utilização de agentes antimicrobianos (administrados sistêmica e/ou localmente), além de procedimentos cirúrgicos, visando a descontaminação das superfícies radiculares. Uma outra abordagem a ser considerada no tratamento da doença periodontal é a modulação da resposta do hospedeiro, como por exemplo, a inibição dos metabólitos do ácido araquidônico.

Os metabólitos do ácido araquidônico, provenientes dos fosfolípídeos das membranas celulares, influenciam uma variedade de processos biológicos, incluindo a inflamação e hemostasia (KUEHL & EGAN, 1980). Dentre esses mediadores, as prostaglandinas, especialmente E₂, provenientes da conversão do ácido araquidônico através da via cicloxigenase (COX), têm sido relatadas em diversos estudos como sendo o principal mediador bioquímico da destruição

periodontal em humanos, estando associada à reabsorção óssea e perda de inserção clínica (OFFENBACHER *et al.*, 1981, 1986, 1993).

As drogas antiinflamatórias não esteroidais produzem efeitos no metabolismo do ácido araquidônico através da inibição da síntese das prostaglandinas, pelo bloqueio da via cicloxigenase (SALVI *et al.*, 1997). Dessa forma, esses agentes poderiam ser considerados importantes no curso de diversas doenças inflamatórias, dentre elas as doenças periodontais, diminuindo a taxa de progressão e reduzindo a perda óssea alveolar, como demonstrado em estudos em animais (WILLIAMS *et al.*, 1987, 1988; OFFENBACHER *et al.*, 1987) e em humanos (WILLIAMS *et al.*, 1989; JEFFCOAT *et al.*, 1991, 1995).

Duas isoenzimas da cicloxigenase têm sido relatadas e caracterizadas como COX-1 e COX-2. A COX-1 é denominada constitutiva ou fisiológica e está presente em quase todas as células; enquanto que a COX-2, denominada de induzida, está presente nas células inflamatórias e sua quantidade estará aumentada substancialmente sob qualquer estímulo inflamatório (LARA, 1998).

Entretanto, antiinflamatórios não esteroidais que possuem seletividade pela inibição da enzima COX-2 podem apresentar superioridade em relação às drogas convencionais, por promover mínimos efeitos colaterais, possuir uma melhor tolerabilidade, preservando o organismo de reações adversas ligadas à excessiva inibição de COX-1. Dentre estas drogas, o meloxicam tem a característica de seletividade pela COX-2 (LARA, 1998; ANDRADE, 2000).

Sabendo-se do papel das prostaglandinas nos processos inflamatórios teciduais, incluindo perda óssea alveolar e em razão da ausência de estudos na literatura que utilizem inibidores seletivos de COX-2 sobre a periodontite experimental por períodos mais prolongados, bem como o efeito remanescente promovido por essa droga após a suspensão da sua administração, o presente estudo propôs uma avaliação da influência de um inibidor seletivo de COX-2, meloxicam, na progressão da periodontite experimental em ratos.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiopatogenia da Doença Periodontal

As doenças periodontais compreendem infecções do tecido de suporte dos dentes que envolvem uma complexa interação entre as bactérias e o hospedeiro, sofrendo influência ainda de fatores genéticos e ambientais (PAGE & KORNMAN, 1997).

Embora a presença das bactérias do biofilme dental seja essencial para a progressão da doença periodontal, elas sozinhas não são suficientes para esclarecer os mecanismos fisiopatológicos da destruição dos tecidos periodontais. A resposta do hospedeiro desempenha um importante papel na patogênese da doença periodontal, por contribuir para o processo da doença ou por modular os efeitos produzidos pelas bactérias (GENCO, 1992).

Uma cascata de eventos começa em razão de um desequilíbrio entre o desafio microbiano, por meio de fatores de virulência e invasão bacteriana, e os fatores associados ao hospedeiro, o qual responde por meio de uma resposta imunoinflamatória imediata, onde há produção e liberação de mediadores inflamatórios pelas células inflamatórias, que perpetuam a resposta contra estes agentes, culminando com a destruição do tecido conjuntivo periodontal e a reabsorção óssea alveolar. Este processo patogênico apresenta diferenças na extensão e severidade no próprio indivíduo (em diferentes sítios) e entre indivíduos diferentes, razões pelas quais são multifatoriais (PAGE & KORNMAN, 1997). Desta forma, o hospedeiro além de promover a proteção e defesa dos tecidos, tem a capacidade de provocar a sua destruição (KINANE & LINDHE, 1999).

Dados longitudinais sobre a progressão natural da periodontite em humanos sugerem que a resposta imunoinflamatória do hospedeiro pode determinar a severidade e a progressão da doença em ritmos diferentes, com episódios de rápida destruição tecidual alternados com períodos de remissão, no entanto, de forma linear e progressiva (SOCRANSKY *et al.*, 1984).

2.2 Doença Periodontal Experimental em Ratos

Os modelos animais têm sido bastante utilizados em estudos experimentais em razão da dificuldade de estudar a patogênese da doença periodontal em humanos.

Os ratos apresentam muita semelhança ao homem em relação à anatomia periodontal, desenvolvimento e composição do biofilme bacteriano, histopatologia das lesões periodontais e imunologia básica. A utilização do rato (*Rattus norvegicus*) em doença periodontal experimental apresenta certas vantagens em relação a outros modelos animais, pois são mais baratos e fáceis de manusear, podem ser criados em condições *germ-free*, bem como podem ser utilizadas linhagens procriadas em condições de imunodeficiência (KLAUSEN, 1991).

Os ratos possuem um incisivo e três molares por hemiarcada. No entanto, os incisivos, por serem roedores, apresentam crescimento contínuo, sendo preferíveis os molares para utilização em periodontite experimental. Os molares apresentam estrutura e organização dos tecidos periodontais muito semelhantes aos humanos. No entanto, a única diferença é que o epitélio sulcular gengival é queratinizado (PAGE & SCHROEDER, 1982). Entretanto, estudos têm demonstrado que os metabólitos do biofilme dento-bacteriano colocados no sulco gengival, penetram no tecido conjuntivo via epitélio juncional, descartando a importância da queratinização do epitélio sulcular nestes animais (TAKATA *et al.*, 1988).

Os ratos apresentam a característica de erupção passiva dos dentes para compensar a atrição das superfícies oclusais com aumento da idade dos animais, além de haver uma migração distal desses dentes, e com isso uma contínua remodelação óssea alveolar. No entanto a distância entre a junção cimento-esmalte e a crista óssea alveolar permanece constante em ratos livres de doença periodontal (KLAUSEN, 1991).

Patógenos periodontais humanos como o *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*,

Eikenella corrodens e *Fusobacterium nucleatum*, podem exercer patogenicidade em experimentos animais. Outros microrganismos também apresentam potencial periodontopatogênico como o *Streptococcus sobrinus* e *Actinomyces viscosus*.

A metodologia de indução de periodontite largamente utilizada em animais consiste na colocação de ligaduras de fio de algodão ou seda ao redor da cervical dos dentes, no nível do sulco gengival, permitindo o acúmulo de biofilme bacteriano e provocando inflamação gengival (JOHNSON, 1975; SALLAY *et al.*, 1982). Os aspectos clínicos e histológicos da periodontite experimental em ratos também são semelhantes aos humanos, em que se observa achatamento e deslocamento da margem gengival, aumento da proliferação do epitélio para o tecido conjuntivo subjacente, infiltrado inflamatório celular, principalmente de mononucleares, migração apical do epitélio juncional e reabsorção da crista óssea alveolar e região interradicular, com reabsorção de cemento e dentina (KLAUSEN, 1991).

Estudos avaliando o tempo de indução da doença têm variado conforme alguns autores. JOHNSON, em 1975, observou reabsorção da crista óssea alveolar, por meio de análise radiográfica, 17 dias após a colocação de ligaduras nos primeiros molares inferiores. Já SALLAY *et al.*, em 1982, demonstraram que com 9 dias já se observava inflamação aguda, seqüestro ósseo e destruição da crista óssea. Em 2000, BEZERRA *et al.* observaram que a perda óssea alveolar em modelo de periodontite experimental em ratos pode ser vista em 4 dias de indução da doença, alcançando um pico máximo aos 7 dias, persistindo inalterado até os 11 dias.

Assim, estudos em ratos têm contribuído enormemente em várias áreas da periodontia, incluindo estrutura tecidual, regeneração, reações a drogas, bem como podem ser utilizados em estudos de patogenicidade, estudos imunológicos e de imunização (PAGE & SCHROEDER, 1982, KLAUSEN, 1991)

2.3 Resposta Imunoinflamatória Tecidual

A inflamação consiste em uma reação complexa no tecido conjuntivo vascularizado, caracterizado fundamentalmente como uma resposta protetora do organismo cujo objetivo final é livrá-lo da causa inicial da lesão celular e das conseqüências dessa lesão, estando intimamente relacionada com o processo de reparação tecidual. Todavia, a inflamação e a reparação são potencialmente lesivas, pois podem dar origem a reações de hipersensibilidade bem como a algumas doenças crônicas comuns. Em razão disso é que drogas antiinflamatórias foram desenvolvidas com a intenção de modular os efeitos da inflamação, controlando suas conseqüências nocivas (COLLINS, 2000).

Tradicionalmente, os processos inflamatórios consistem em três fases baseadas na apresentação histológica: uma fase aguda, uma resposta imunológica e uma fase crônica. A fase aguda acontece à medida que um dano tecidual ocorre, a qual é caracterizada pela presença de leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos). Nesta fase, determinadas moléculas induzem vasodilatação (bradicinina e prostaglandinas), aumentam a permeabilidade vascular (histamina e leucotrienos) as quais possuem propriedades quimiotáticas (sistema complemento e leucotrienos) para atrair outras células inflamatórias (mononucleares). A fase seguinte se inicia quando as células apresentadoras de antígeno se tornam envolvidas e apresentam os microorganismos ou corpos estranhos às células imunocompetentes. Isto leva a um aumento na presença de células mononucleares e a lesão crônica se instala. Tais mediadores bioquímicos, provenientes do plasma ou das células, amplificam a resposta inflamatória vascular e celular e influenciam sua evolução (COLLINS, 2000). Entretanto, na doença periodontal, essas fases clássicas de inflamação aguda e crônica não são facilmente aplicadas (KINANE & LINDHE, 1999).

A inflamação crônica pode ser considerada aquela de duração prolongada na qual a inflamação ativa (infiltrado de células mononucleares - macrófagos, linfócitos e plasmócitos), destruição tecidual (especialmente pelas células inflamatórias) e tentativas de reparação por substituição do tecido

danificado por tecido conjuntivo estão ocorrendo simultaneamente. A inflamação crônica pode suceder a inflamação aguda ou pode ser crônica quase desde o início, começando de maneira insidiosa, como uma resposta de baixo grau, latente e muitas vezes assintomática.

Normalmente, a fagocitose ou neutralização dos agentes invasores representa um efeito benéfico do sistema imune do hospedeiro. No entanto, o resultado desta interação pode ser prejudicial se durante a fase crônica, uma quantidade exagerada de mediadores pró-inflamatórios (citocinas, sistema complemento e produtos derivados do ácido araquidônico) seja liberada nos tecidos adjacentes (VANE & BOTTING, 1995; OFFENBACHER *et al.*, 1993). Desta forma, as células que compõem o infiltrado inflamatório são importantes na patogênese das doenças periodontais por contribuir para o processo da doença ou por modular os efeitos das bactérias (TAUBMAN *et al.*, 1984).

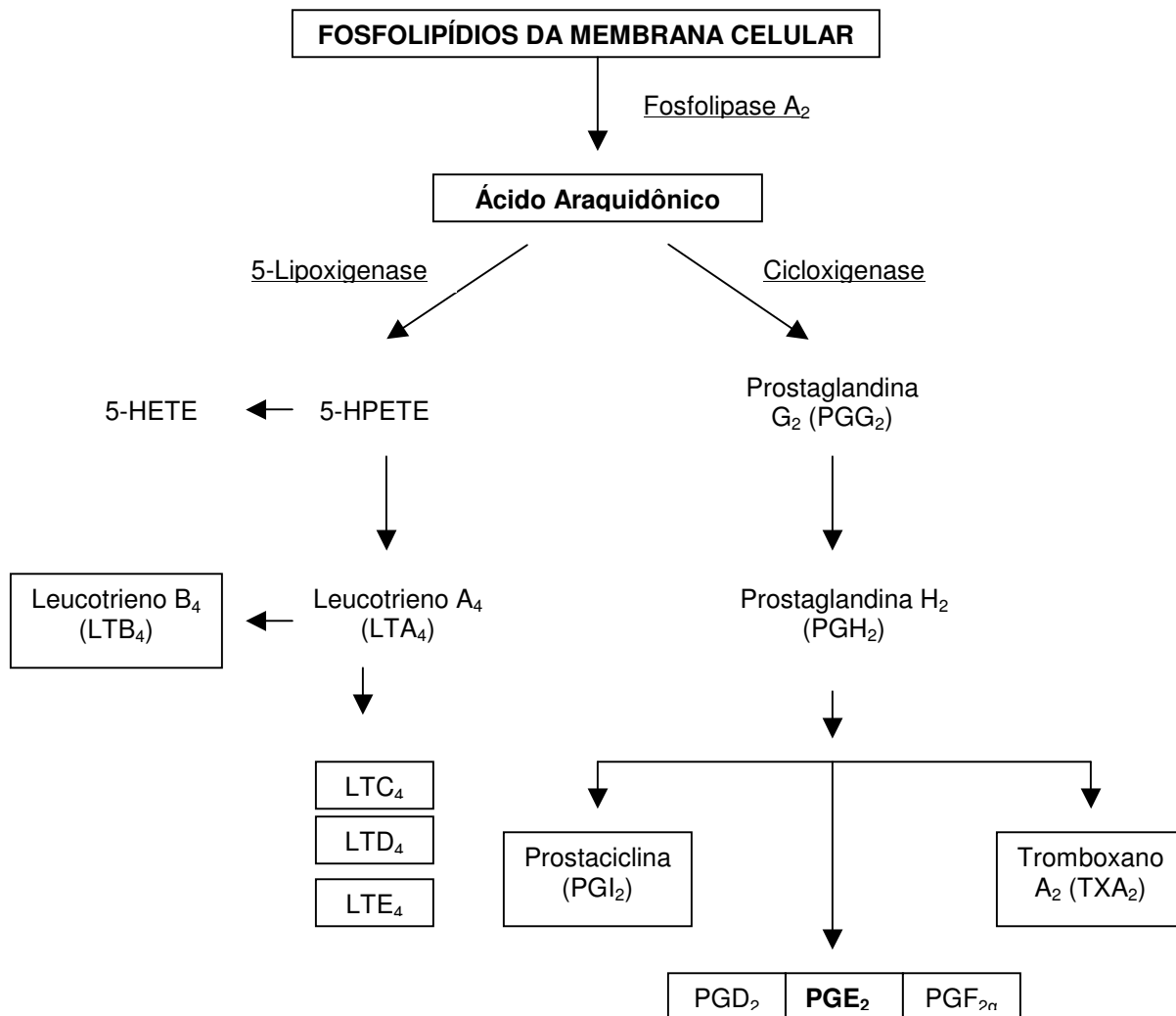
2.4 Metabólitos do Ácido Araquidônico

O ácido araquidônico (AA) é um ácido graxo poliinsaturado de 20 carbonos (eicosanóide), e sob qualquer estímulo inflamatório é liberado dos fosfolípidios da membrana celular pela ação da enzima fosfolipase A₂ (OFFENBACHER *et al.*, 1986; GIERSE *et al.*, 1995). O ácido araquidônico livre é metabolicamente transformado através das vias cicloxigenase (COX ou prostaglandina H₂-sintetase) e lipoxigenase (5-LOX) (VANE & BOTTING, 1995; COLLINS, 2000). Quando enzimaticamente oxidado pela via cicloxigenase, o ácido araquidônico forma cicloendoperóxidos intermediários instáveis (PGG₂ e PGH₂), levando posteriormente a síntese de prostanóides (prostaglandinas, prostacilinas) e tromboxanos ou quando oxidado pela via lipoxigenase, forma os leucotrienos e outros ácidos mono-hidroxi-eicosatetraenoicos (HETE) (GIERSE *et al.*, 1995).

Os eicosanóides são produzidos nos tecidos de acordo com as necessidades e estímulos que o organismo recebe do meio exterior. São considerados como freqüentes mediadores e moduladores de todos os processos

inflamatórios que ocorrem no organismo, embora também estejam relacionados a muitos processos fisiológicos (KUEHL & EGAN, 1980; LARA, 1998). As principais ações inflamatórias dos metabólitos são a vasoconstricção (TXA₂, LTC₄, LTD₄, LTE₄), vasodilatação (PGI₂, PGE₁, PGE₂, PGD₂), aumento da permeabilidade vascular (LTC₄, LTD₄, LTE₄), quimiotaxia e aderência leucocitária (LTB₄, HETE, lipoxinas) (COLLINS, 1998). E a natureza destes produtos biologicamente ativos será determinada pelo tecido em questão (KUEHL & EGAN, 1980).

Geração de Metabólitos do Ácido Araquidônico



Recentemente, duas isoenzimas da cicloxigenase têm sido relatadas e caracterizadas como COX-1 e COX-2, as quais são codificadas por diferentes genes (KUJUBU & HERSCHMAN, 1992). A COX-1 é denominada constitutiva ou fisiológica, estando presente em quase todas as células, em que os prostanóides por ela produzidos estão envolvidos com processos homeostáticos, regulando a atividade normal das células. Enquanto que a COX-2, denominada induzida ou patológica, é rapidamente produzida em resposta a uma variedade de estímulos pró-inflamatórios como, por exemplo, as citocinas, fatores de crescimento e lipolissacarídeos bacterianos (GIERSE *et al.*, 1995; HART & KORNMAN, 1997; LARA, 1998).

Na década de 30, Goldblatt e von Euler, descobriram um ácido graxo vasoativo no líquido da vesícula seminal humana que tinha a capacidade de diminuir a pressão sanguínea em coelhos. Em seguida, von Euler denominou este composto de prostaglandina, porque ele admitiu ter se originado na glândula prostática (SALVI *et al.*, 1997). Nos anos 60 e início dos anos 70, as prostaglandinas foram consideradas como mediadores dos sinais cardinais da inflamação – vermelhidão, edema, dor, calor e perda da função (KUEHL & EGAN, 1980).

A partir de então, diversos estudos começaram a investigar o possível papel das prostaglandinas como mediadores da inflamação gengival e sua influência na reabsorção óssea alveolar (OFFENBACHER *et al.*, 1993).

2.5 Regulação do Metabolismo Ósseo

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e material intercelular calcificado (matriz óssea). As principais células que regulam a renovação do esqueleto são os osteoblastos e osteoclastos. Os osteoblastos se originam das células mesenquimais indiferenciadas e secretam as proteínas da matriz óssea extracelular que posteriormente se tornam mineralizadas. Os osteoclastos são células gigantes multinucleadas, presentes apenas no osso, derivadas dos monócitos sanguíneos, capazes unicamente de

remover osso, através da secreção de enzimas proteolíticas (HOROWITZ *et al.*, 2001).

A formação óssea é controlada por hormônios sistêmicos ou fatores locais. Os reguladores de formação óssea local são os fatores de crescimento produzidos pelas células presentes no tecido conjuntivo, que agem diretamente sobre as células da linhagem osteoblástica, estimulando a neoformação óssea, como o fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de crescimento tipo-insulina I e II, fator de crescimento transformador $\beta 1$ e $\beta 2$, fator de crescimento de fibroblastos e proteínas morfogenéticas ósseas (SCHWARTZ *et al.*, 1997).

Na remodelação óssea normal, os osteoclastos são recrutados para um sítio, aderem-se ao osso e o reabsorve, enquanto os osteoblastos reconhecem tal sítio, por mecanismo desconhecido, migram e reparam os defeitos por secreção de matriz óssea extracelular. Esta alternância mantém o equilíbrio ósseo no esqueleto, e um desequilíbrio pode resultar em maior ou menor quantidade óssea (HOROWITZ *et al.*, 2001).

Uma interação reguladora ocorre no organismo, em que células da linhagem osteoblástica regulam a diferenciação osteoclástica. Sob condições fisiológicas, as células da linhagem osteoblásticas estão envolvidas na osteoclastogênese através de um mecanismo que envolve o contato célula-célula com os precursores dos osteoclastos, quando estes são colocados em contato direto, em cultura de medula óssea, ocorrendo indução de osteoclastos pelas células da linhagem osteoblástica (TAKAHASHI *et al.*, 1988). Isto implica que os osteoblastos expressam moléculas na sua superfície e que são reconhecidas por moléculas receptoras na superfície dos precursores dos osteoclastos, as quais são essenciais para a diferenciação e função destes. Isto levou a identificação de um novo grupo de citocinas da família de ligantes e receptores do fator de necrose tumoral (FNT), os quais são necessários para o controle da osteoclastogênese (SUDA *et al.*, 1999; HOROWITZ *et al.*, 2001). Tais moléculas são: Osteoprotegerin (OPG) ou Fator Inibidor de Osteoclastogênese (FIOC); RANK ligante (RANKL ou Receptor Ativador de NF kappa B ligante) ou também chamado FDO (Fator de

Diferenciação de Osteoclasto), expresso nas células osteoblásticas e o seu receptor RANK, expresso nos precursores osteoclásticos.

Uma variedade de fatores osteotrópicos como a 1,25 hidroxivitamina D₃, interleucina 11 (IL-11), hormônio da paratireóide (HPT) e prostaglandina E₂ (PGE₂) são essenciais para a indução de formação de células osteoclásticas (osteoclastogênese), em cultura, por regularem indiretamente a expressão da OPG e do RANKL nos osteoblastos (YASUDA *et al.*, 1998; HOFBAUER & HEUFELDER, 2001).

A osteoprotegerin (OPG) é uma glicoproteína secretada como um fator local pelas células osteoblásticas em resposta a fatores osteotrópicos ou citocinas (UDAGAWA *et al.*, 2000), agindo como um receptor “isca” solúvel para o fator de diferenciação de osteoclastos (FDO ou RANKL). A OPG é considerada um regulador fisiológico importante na diferenciação e função dos osteoclastos desempenhando um potente papel na proteção da reabsorção óssea (UDAGAWA *et al.*, 2000).

O RANKL é uma proteína transmembrana tipo II que parece auxiliar na fusão, diferenciação e sobrevivência de progenitores osteoclásticos em osteoclastos (UDAGAWA *et al.*, 2000). Quando ocorre a sua ligação com o RANK na superfície das células precursoras dos osteoclastos é que se traduz um sinal essencial para a osteoclastogênese (NAKAGAWA *et al.*, 1998). Estes últimos autores também demonstraram que a OPG inibia a osteoclastogênese por interferir na ligação do RANKL ao RANK, demonstrando que a OPG atua como um receptor “isca” para RANKL por competir com o RANK, expressos nas células da linhagem osteoclástica.

O RANK é uma proteína transmembrana tipo I que se liga unicamente ao RANKL. É um receptor expresso nas células precursoras osteoclásticas e em osteoclastos maduros, ativando a osteoclastogênese (NAKAGAWA *et al.*, 1998; HOROWITZ *et al.*, 2001).

Sabe-se que a PGE₂ estimula a reabsorção óssea tanto *in vitro* como *in vivo* (RAISZ *et al.*, 1977). A PGE₂ influencia na formação osteoclástica na

presença das células da linhagem óssea como também age diretamente nos precursores osteoclásticos circulantes, promovendo a diferenciação destes (ITONAGA *et al.*, 1999).

O'BRIEN *et al.*, em 2001, demonstraram que a PGE_2 , o hormônio da paratireóide, a $1,25D_3$ e a dexametasona inibiram a produção de OPG em calvária de ratos e estimularam o RANKL. E que na ausência de efeitos estimulatórios promovidos pela PGE_2 , na reabsorção óssea, existe um aumento na expressão de OPG nas linhagens celulares osteoblásticas, havendo uma inibição da atividade dos osteoclastos, *in vitro*. A indometacina inibiu a reabsorção óssea por inibir a produção de PGE_2 e promover uma separação dos osteoclastos da superfície óssea, inserindo-se no periósteo.

Em 2000, TENG *et al.* procuraram investigar o possível mecanismo molecular para a destruição óssea ocorrida na doença periodontal por meio da implantação de linfócitos sanguíneos humanos de pacientes com periodontite positivos para o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em ratos desprovidos de células T e B. A indução microbiana promoveu a expressão do RANKL nas células T com conseqüente ativação dos osteoclastos e perda óssea mediada pelo RANKL, funcionando como uma explicação molecular para a destruição óssea alveolar observada na doença periodontal. Os autores também sugeriram que a inibição da função da RANKL via seu receptor OPG, diminui a destruição óssea nos animais e reduz o número de osteoclastos. Tal mecanismo pode apresentar um valor terapêutico na prevenção ou interrupção da perda óssea ou da perda dentária na doença periodontal em humanos.

Anormalidades do sistema RANKL/OPG têm sido implicadas na patogênese de diversas doenças que envolvem o metabolismo ósseo como a osteoporose, artrite reumatóide, tumores ósseos benignos e malignos, doença de Paget, metástases ósseas e doença periodontal e que a administração de OPG pode ajudar a prevenir ou aliviar estas desordens em modelos animais (HOFBAUER & HEUFELDER, 2001). A descoberta e caracterização destas moléculas têm modificado os conceitos da regulação do metabolismo ósseo e a

realização de estudos se torna necessária para se esclarecer de forma mais detalhada a patogênese de desordens ósseas que envolvem atividade aumentada de osteoclastos, o que pode se tornar uma nova base de estratégias terapêuticas no futuro.

2.6 Reabsorção Óssea na Doença Periodontal

A inflamação crônica é a causa mais comum de destruição óssea alveolar na periodontite e esta perda óssea é o resultado da desregulação de um complexo processo que envolve reabsorção e formação óssea (PAGE *et al.*, 1997). Os efeitos dos eventos promovidos pelas substâncias derivadas das bactérias ou do hospedeiro na progressão da doença periodontal ainda não estão completamente esclarecidos.

Tem-se sugerido que a presença do biofilme dental e seus subprodutos afetam as células imunes no tecido conjuntivo e células ósseas. Nas células imunes, esses produtos induzem a produção de fatores locais, também denominados fatores osteotrópicos, como IL-1 α e β , IL-6, PGE₂ e fator de necrose tumoral α (FNT α), bem como outros mediadores inflamatórios os quais modificam o balanço de remodelação óssea tanto *in vivo* como *in vitro*, aumentando a formação e ativação osteoclástica bem como inibindo a função osteoblástica, o que conseqüentemente leva à destruição do tecido conjuntivo e reabsorção óssea (SCHWARTZ *et al.*, 1997).

Entretanto, a reabsorção óssea também pode ser regulada por fatores provenientes das células imunes e inflamatórias, que apresentam efeitos opostos aqueles que estimulam a reabsorção, como a IL-1ra, Interferon γ (IFN γ), IL-10, IL-4, FTC β (Fator transformador de crescimento β), tendo influência sobre diversas respostas imunoinflamatórias (GEMMELL *et al.*, 1997) seja bloqueando a ativação de citocina induzida, bloqueando a formação de osteoclastos e promovendo a ativação de osteoblastos por meio de outros fatores de crescimento ósseos, melhorando o reparo ósseo (MIYASAKI, 1997).

No início dos anos 70, as prostaglandinas, especialmente aquelas da serie E, foram consideradas potentes estimuladoras da reabsorção óssea, como demonstrado em cultura de tecidos gengivais e em humanos (GOLDHABER *et al.*, 1973; GOODSON *et al.*, 1974; GOMES *et al.*, 1976; RAISZ *et al.*, 1977). Por encontrarem-se em níveis elevados na doença periodontal quando comparados aos tecidos periodontais normais, a sua capacidade de reabsorver osso era maior do que os outros metabólitos do metabolismo do ácido araquidônico (GOODSON *et al.*, 1974), sendo considerado, portanto, um provável mediador em doenças que envolvem perda óssea.

2.7 Prostaglandinas como Marcadores Bioquímicos na Doença Periodontal

As prostaglandinas não são encontradas livres nos tecidos nem nas células, mas são sintetizadas localmente como resultado de alterações nas membranas celulares provocadas por estímulos que causam a liberação do ácido araquidônico (KUEHL & EGAN, 1980). Na doença periodontal, as prostaglandinas E₂ (PGE₂) são secretadas pelas células inflamatórias, principalmente monócitos e macrófagos, mas também por células epiteliais e endoteliais, fibroblastos gengivais e do ligamento periodontal estimulados por endotoxinas bacterianas, citocinas como a IL-1 e FNT α , sistema complemento, fagocitose, degranulação (OFFENBACHER *et al.*, 1986; GEMMEL *et al.*, 1997).

As células polimorfonucleares, essenciais para o início da inflamação aguda, produzem poucas quantidades de prostaglandinas, enquanto que as células mononucleares (monócitos/macrófagos), características da inflamação crônica, liberam grandes quantidades de prostaglandinas e prostaciclina em resposta ao estímulo inflamatório (KUEHL & EGAN, 1980).

Avaliando amostras do fluido crevicular gengival e do tecido gengival de pacientes com saúde e com doença periodontal, observou-se que os níveis de prostaglandinas e outros metabólitos estavam significativamente elevados nos tecidos doentes comparados com os sítios saudáveis (GOODSON, 1974; DEWHIRST *et al.*, 1983; EL ATTAR *et al.*, 1983; OFFENBACHER *et al.*, 1986;

WILLIAMS *et al.*, 1988), tendo sido relacionados com inflamação gengival, aumento da profundidade de sondagem, perda óssea alveolar em modelo experimental em animais (WILLIAMS *et al.*, 1988; OFFENBACHER *et al.*, 1992; LI *et al.*, 1996) e em humanos (DEWHIRST, 1983; OFFENBACHER *et al.*, 1984; 1986; ABRAMSON *et al.*, 1992; HEASMAN *et al.*, 1993c).

Uma das avaliações iniciais a respeito da presença de PGE_2 no fluido crevicular foi realizada por OFFENBACHER *et al.*, em 1981, os quais hipotetizaram que elevados níveis de PGE_2 no fluido crevicular poderiam representar um fator diagnóstico potencial para a detecção de sítios com atividade destrutiva periodontal aumentada, enquanto que baixos níveis de PGE_2 refletem sítios inativos da doença. Os níveis de prostaglandina no fluido crevicular foram significativamente maiores em pacientes com periodontite quando comparado com gengivite. Os autores também mostraram que a concentração dos níveis foi sítio dependente em um mesmo paciente, sugerindo a possível presença tanto de sítios periodontais com doença ativa e inativa.

DEWHIRST *et al.*, em 1983, avaliando a importância dos mediadores PGE_2 , TXA_2 e PGI_2 na doença periodontal crônica, demonstraram que níveis aumentados de PGE_2 em tecidos periodontais superficiais e profundos sugerem que tal mediador pode ser um indicador na gengivite e periodontite e que a ocorrência do TXB_2 (cujo precursor é o TXA_2), em amostras da base da bolsa periodontal, poderia estar mais relacionado à periodontite, e não foi encontrado em tecido não inflamado. Já o 6-K- PGF_{12} (cujo precursor é a prostaciclina) apresentou uma distribuição mais uniforme e está mais relacionado com a fisiologia periodontal ou mediando interações vascular-ósseas.

Ao quantificarem os níveis de PGE_2 no fluido crevicular e no tecido gengival de pacientes com periodontite do adulto e periodontite juvenil localizada, OFFENBACHER *et al.*, em 1984, puderam observar que existia uma forte correlação entre os níveis de PGE_2 no fluido gengival e no tecido conjuntivo periodontal, sendo quase 3 vezes maior na periodontite juvenil do que na

periodontite do adulto, indicando uma significativa associação entre os níveis de PGE₂ no fluido e a severidade da doença periodontal.

Num estudo longitudinal, OFFENBACHER *et al.*, em 1986, utilizando os níveis de PGE₂ como um marcador de risco para a atividade da doença periodontal, observaram que níveis maiores do que 66,2ng/ml de PGE₂ no fluido crevicular poderiam ser considerados como um fator de risco para a perda de inserção futura em 1 ou mais sítios dentro de um período de 6 meses. A taxa de risco para o colapso periodontal foi 47 vezes maior para os pacientes com “doença ativa”, com altos níveis de PGE₂ no fluido crevicular, quando comparado a pacientes com “doença estável”, onde os níveis de PGE₂ se encontravam abaixo da taxa de 66,2ng/ml. Pacientes que apresentavam perda óssea possuíam um nível médio de PGE₂ de 113.4ng/ml em um período de 6 meses antes de um episódio de perda de inserção futura, sendo significativamente maior do que o nível de PGE₂ de pacientes que não apresentavam perda de inserção (50,1ng/ml). O teste apresentou uma alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo geral. Assim, tais resultados foram considerados significativos como um método de diagnóstico para determinar se um paciente encontra-se em estado de remissão da doença ou poderá se submeter a um episódio de perda de inserção futuro.

SMITH *et al.*, em 1993, monitoraram as variações nos níveis de PGE₂, TXB₂, IL-1 β , FNT α e LTB₄ no fluido gengival de macacos com periodontite induzida por ligadura, por um período de 6 meses. Os autores observaram que em um mês, os níveis de LTB₄ alcançaram um pico 3 vezes maior que o *baseline*, enquanto que para a PGE₂, um aumento em 3 vezes ocorreu em torno de 2 meses, quando comparados ao *baseline*. Os níveis de IL-1 β apresentaram-se aumentados nos primeiros 2 meses, enquanto que os níveis de FNT α apresentaram-se abaixo do limite de detecção em todo o experimento. Tais achados sugerem que em uma fase inicial, a ativação neutrofílica e liberação de leucotrieno desempenham um papel importante e são acompanhados por um aumento nos sinais clínicos de inflamação gengival, onde o LTB₄ parece servir como recrutador de neutrófilos e monócitos ativados para o sítio. Enquanto que

em uma fase mais tardia da lesão, o infiltrado mononuclear se torna ativado em razão da penetração profunda de lipopolissacarídeos e antígenos, levando a uma ativação da via cicloxigenase e síntese elevada de mediadores inflamatórios incluindo a PGE₂, com conseqüente perda de inserção e perda óssea alveolar.

Em um estudo com gengivite experimental em humanos, durante 28 dias, HEASMAN *et al.*, em 1993a, avaliaram as mudanças nos níveis de IL-1 β , LTB₄, PGE₂, TXB₂ e FNT α no fluido crevicular. Os resultados demonstraram que os níveis de LTB₄ e IL-1 β aumentaram significativamente na primeira semana e permaneceram altos durante todo o período experimental. Entretanto, durante as três primeiras semanas, os níveis de PGE₂ e TXB₂ não aumentaram significativamente acima dos níveis do *baseline*. Desta forma, os autores concluíram que a inflamação associada durante os primeiros 21 dias não estava relacionada aos níveis de PGE₂. Assim, sugeriu-se que a inflamação gengival inicial, evidente clinicamente, estava associada com a síntese de LTB₄ e que não seria inibida pela maioria dos antiinflamatórios não esteroidais. Explicando em parte, a fraca aparência dos antiinflamatórios não esteroidais em bloquear os sinais clínicos da inflamação.

2.8 Antiinflamatórios Não Esteroidais na Doença Periodontal

A liberação de prostaglandinas em decorrência de estímulos inflamatórios é bem estabelecida. A partir de então se começou a procurar diferentes formas de inibir os efeitos das prostaglandinas e outros produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico.

Em 1973, GOLDHABER *et al.* observaram que o tecido gengival inflamado produzia quantidades significantes de prostaglandinas e associaram, posteriormente, a inibição da síntese de prostaglandinas à considerável redução na quantidade de reabsorção óssea. Os autores hipotetizaram que se as prostaglandinas eram responsáveis pela perda óssea associada com a periodontite e se os antiinflamatórios eram capazes de inibir a síntese de prostaglandinas, portanto, a utilização destas drogas poderia ter um efeito na

redução da perda óssea na doença periodontal em associação com outras modalidades terapêuticas.

Existem dois grupos de antiinflamatórios, os relacionados com o hormônio glicocorticóide, e por isso chamados “esteroidais” ou “hormonais” e aqueles não relacionados com hormônios, os chamados “não esteroidais” (LARA, 1998).

Os antiinflamatórios esteroidais (AIE) apresentam eficácia superior aos antiinflamatórios não esteroidais, em virtude de inibirem a liberação do ácido araquidônico, por meio da inibição da enzima fospolipase A₂, suprimindo assim a liberação das prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (SEYMOUR E HEASMAN, 1988). Entretanto, apesar do seu potencial terapêutico superior, os efeitos colaterais como degeneração óssea e supressão da resposta imune, quando administrados por longos períodos de tratamento, limitam sua utilização como agente antiinflamatório (KUEHL & EGAN, 1980).

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) apresentam propriedades analgésica, anti-pirética e antiinflamatória por meio de mecanismos farmacológicos diferentes dos esteroidais (SEYMOUR E HEASMAN, 1988). Tais agentes interferem na via cicloxigenase, promovendo uma regulação da síntese dos componentes do metabolismo do ácido araquidônico (prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos), suprimindo a sua formação (KUEHL E EGAN, 1980).

Em razão das propriedades pró-inflamatórias das prostaglandinas (PGE₂), por encontrarem-se em níveis aumentados na doença periodontal e por estimular a reabsorção óssea tem-se buscado a inibição ou diminuição na sua síntese. Em razão disto, a utilização de antiinflamatórios não esteroidais como um modulador da resposta do hospedeiro poderia diminuir a progressão da perda óssea em vários modelos animais e estudos em humanos.

2.8.1 Estudos em animais

NYMAN *et al.*, em 1979, realizaram um dos primeiros estudos utilizando antiinflamatórios não esteroidais em modelo de periodontite experimental em animais, o qual tinha como objetivo avaliar se a resposta inflamatória e reabsorção óssea decorrentes da doença periodontal poderiam ser suprimidas pela administração diária de indometacina (1mg/kg, duas vezes ao dia) em cães, durante 28 dias. Os autores puderam observar com os resultados histológicos e histométricos, que a indução de doença periodontal experimental através da colocação de ligaduras de algodão em uma posição apical a margem gengival poderia induzir uma reação inflamatória aguda nos tecidos periodontais, com aumento do número de osteoclastos, resultando em perda de inserção de tecido conjuntivo e perda óssea alveolar. A administração diária de indometacina interferiu na resposta periodontal à colocação da ligadura e que se administrada no início precoce da doença periodontal, pode diminuir a progressão da doença e resultar em menor perda óssea alveolar, sugerindo que os antiinflamatórios não esteroidais podem ser considerados potenciais bloqueadores da progressão da doença periodontal.

Em 1981, NUKI *et al.* realizaram um estudo objetivando a avaliação do efeito da administração de indometacina (12,5mg, duas vezes ao dia) e metronidazol (500mg, duas vezes ao dia) sistêmicos, durante o período de 1 semana, sobre a reabsorção óssea em periodontite experimental em cães. Os resultados mostraram que o metronidazol diminuiu a atividade de reabsorção óssea, em razão da supressão dos microrganismos anaeróbios presentes, os quais produziram fatores que reabsorveriam osso ou por induzirem mudanças nos tecidos adjacentes que levariam à reabsorção óssea. Para o grupo da indometacina, os resultados não mostraram efeito significativo sobre a inibição da reabsorção óssea, provavelmente devido à dose e o tempo de duração da administração do medicamento, sugerindo que a redução das prostaglandinas não tenha sido suficiente para avaliar tal parâmetro neste grupo.

Já WEAKS-DYBVIG *et al.*, em 1982, procuraram determinar se as prostaglandinas exerciam atividade sobre os eventos que levavam à perda óssea em modelo de periodontite induzida por ligaduras em macacos. Foi administrado 5mg/kg de indometacina (duas vezes ao dia) nos períodos de uma e duas semanas. Os resultados mostraram que no grupo não tratado, em apenas uma semana, não houve perda significativa de altura óssea interproximal, enquanto que em duas semanas a perda foi bem significativa. No grupo tratado com a indometacina, os animais não exibiram perda óssea significativa durante todo o período do experimento. Na segunda semana, o grupo não tratado e que recebeu ligadura mostrou diminuição da densidade dos osteoclastos, sendo semelhante aos sítios que não receberam ligaduras e que osteogênese ocorria em áreas onde extensa reabsorção óssea tinha ocorrido anteriormente. Os autores puderam concluir que a administração diária da indometacina, em periodontite induzida em modelos animais, apresentou uma significativa inibição da perda óssea alveolar e do número de osteoclastos presentes.

Em 1983, LASFARGUES & SAFFAR propuseram-se a avaliar o efeito curativo e preventivo da indometacina (2 e 4mg/kg diariamente) sobre a destruição óssea durante a periodontite experimental em hamsters. O tratamento curativo consistiu em indução da doença periodontal por um período de 45 dias, por meio de uma dieta que permite o acúmulo de biofilme bacteriano. Nas seis semanas subseqüentes foi administrada a indometacina intraperitonealmente. No tratamento preventivo (ao mesmo tempo da indução da doença) foi administrada a droga por um período de 45 dias. Os resultados demonstraram que houve um aumento da perda óssea no grupo controle, enquanto que o grupo que recebeu a indometacina apresentou uma redução desta perda. A indometacina pareceu ser mais efetiva na redução da perda óssea quando administrada na doença já estabelecida (tratamento curativo) do que no estágio incipiente da doença (tratamento preventivo).

Em 1984, WILLIAMS *et al.* foram os primeiros a avaliarem o efeito de antiinflamatório não esteroide, flurbiprofeno, na progressão da doença periodontal

ocorrendo naturalmente em cães, de moderada à severa. Os animais foram tratados com flurbiprofeno (0,02mg/kg diariamente, via oral) durante o período de um ano. O experimento permitiu a comparação da progressão da perda óssea alveolar em um período de 6 meses pré-tratamento com a progressão em 12 meses de terapia, por meio de radiografias padronizadas a cada 3 meses. Os autores observaram que o flurbiprofeno promoveu uma diminuição de 66 a 91% (apenas com a droga e combinada com acesso pra raspagem, respectivamente) na taxa de perda óssea alveolar quando comparado com cães não tratados, sendo considerado, portanto, um potente inibidor da perda óssea alveolar em periodontite ocorrendo naturalmente em cães.

VOGEL *et al.*, em 1986, avaliaram o efeito de um antiinflamatório aplicado topicamente (substituto derivado do oxazolopiridínio a 2%), comparado a indometacina (5mg/kg/dia) administrada sistemicamente na doença periodontal induzida em macacos, por um período de 14 dias. Os autores puderam observar com os resultados que ambas as drogas inibiram a reabsorção óssea interproximal associada com a periodontite induzida por ligadura. O substituto derivado do oxazolopiridínio demonstrou um possível aumento na altura do osso alveolar interproximal em relação ao grupo da indometacina, porém não foi estatisticamente significativo. Para o parâmetro clínico de sangramento gengival, o derivado aplicado topicamente diminuiu significativamente a inflamação gengival quando comparado ao grupo placebo e da indometacina administrada sistemicamente.

em 1986, JEFFCOAT *et al.* estudaram, em cães, o efeito do flurbiprofeno na progressão da doença periodontal ocorrendo naturalmente em um período de 2 anos, por meio de radiografias padronizadas, bem como o seu efeito residual no período de 6 meses pós-tratamento. Após um período de 6 meses de pré-tratamento, os animais receberam 0,02mg/kg de flurbiprofeno, diariamente por um período de 12 meses. Em um lado da boca, os sítios foram tratados com retalho para raspagem e o lado contralateral não recebeu qualquer tratamento. A medicação foi suspensa aos 12 meses e os animais avaliados nos períodos de 3 e

6 meses pós-tratamento. Os resultados do estudo demonstraram que no grupo tratado com o medicamento, tanto no lado que se submeteu à cirurgia como o que não se submeteu, apresentaram uma diminuição significativa da perda óssea alveolar no período de tratamento, comparada ao grupo que não recebeu o medicamento. Esse efeito residual se manteve por um período de 3 meses após a suspensão do medicamento, porém aos 6 meses o flurbiprofeno não apresentava mais efeito. Os autores não observaram mudanças significativas na inflamação gengival com o tratamento medicamentoso.

Em 1987, OFFENBACHER *et al.* estudaram o efeito do flurbiprofeno na progressão da periodontite espontânea e induzida por ligadura em macacos, nos períodos de 3 e 6 meses de tratamento, por meio de medidas clínicas do nível de inserção e análise radiográfica. Os animais foram divididos em três grupos, os quais receberam flurbiprofeno diariamente em baixa dosagem (0,27mg/kg), em alta dosagem (7,1mg/kg) e nenhum tratamento. Baseado nos resultados clínicos e radiográficos, os autores puderam demonstrar que o tratamento com flurbiprofeno inibiu significativamente a perda de inserção e perda óssea no grupo tratado e com ligadura e com doença ocorrendo espontaneamente. Independente da dosagem, poucos sítios perderam inserção, mais sítios permaneceram estáveis e mais sítios aumentaram o nível de inserção quando comparados ao controle. Também foi observada uma redução significativa do eritema gengival, mesmo na presença de grandes quantidades de biofilme dental. Todos os resultados foram semelhantes para os sítios que apresentavam progressão natural da doença.

Já WILLIAMS *et al.*, em 1987, compararam o efeito do flurbiprofeno e indometacina sobre a perda óssea alveolar no tratamento da periodontite ocorrendo naturalmente em cães por um período de 12 meses, por meio de análise radiográfica a cada 3 meses. Os animais foram divididos em 3 grupos: placebo, 0,02mg/kg de flurbiprofeno e 1mg/kg de indometacina. Os resultados demonstraram que o grupo não tratado apresentou um aumento da perda óssea alveolar durante o período de tratamento (92,8%), enquanto que os grupos tratados apresentaram uma diminuição da atividade de reabsorção aos 12 meses

do estudo. O grupo tratado com o flurbiprofeno mostrou uma inibição significativa da perda óssea (62,8%) comparada ao controle, enquanto que o grupo tratado com a indometacina mostrou inibição não significativa da perda óssea (23,8%).

Em 1988, WILLIAMS *et al.* avaliaram, radiograficamente, o potencial inibidor do ibuprofeno, em diferentes concentrações (4,0mg/kg, 0,4mg/kg e 4,0mg/kg em um sistema de liberação sustentada), sobre a perda óssea alveolar em cães com periodontite de moderada a severa ocorrendo naturalmente em um período de 13 meses, comparado ao placebo. Após um período de pré-tratamento de 6 meses, os animais foram tratados com as dosagens de ibuprofeno por um período de 7 meses. Os resultados demonstraram que o tratamento com o ibuprofeno, em suas diferentes formulações, mostrou uma significativa diminuição da perda óssea aos 7 meses de tratamento (50%-70%), sendo que o grupo que recebeu 0,4mg/kg apresentou uma redução não significativa, quando comparado ao grupo não tratado.

Utilizando um sistema de liberação local biodegradável contendo flurbiprofeno em bolsas periodontais ou injetando diretamente dentro do tecido gengival inflamado de cães, YEWEY *et al.*, em 1991, avaliaram o seu efeito sobre os tecidos periodontais e amostras do fluido gengival foram coletadas para análise. Os autores analisaram, *in vitro*, o tempo de liberação do dispositivo local e observaram que o flurbiprofeno foi liberado de forma constante por um período de duas semanas. Na avaliação do fluido gengival, os resultados mostraram que o flurbiprofeno manteve uma concentração sustentada por um período de aproximadamente 4 dias, com pico de seis horas. Após um período de 28 dias, a avaliação clínica mostrou redução na profundidade de sondagem (de 0,8mm) e sangramento à sondagem (de 50%). Desta forma, pôde-se concluir que a liberação localizada e controlada de flurbiprofeno pode representar uma abordagem potencial no tratamento da periodontite.

OFFENBACHER *et al.*, em 1992, procuraram avaliar o efeito de alguns antiinflamatórios não esteroidais sobre os níveis dos metabólitos da cicloxigenase no fluido crevicular e sobre a perda óssea alveolar em periodontite ocorrendo

naturalmente em cães. Após um período de 6 meses de pré-tratamento, os animais foram separados em grupos e receberam diariamente os seguintes tratamentos: placebo, ibuprofeno sistêmico (0,4mg/kg, 4mg/kg e 4,0mg/kg num sistema de liberação sustentada), naproxeno sistêmico (2mg/kg) e flurbiprofeno tópico (0,3mg em 1,0ml de gel) durante um período de 6 meses de tratamento, em que amostras do fluido crevicular e tomadas radiográficas foram obtidas. Na análise do fluido crevicular dos animais não tratados, os níveis de PGE_2 aumentaram 2 vezes no primeiro mês e aos seis meses alcançaram níveis 5 a 6 vezes maiores do que o *baseline*. Em relação aos níveis de TXB_2 , houve uma elevação de 4 a 5 vezes no primeiro mês e aos 6 meses houve uma redução para 2 vezes em relação ao *baseline*. Os resultados também demonstraram que todos os antiinflamatórios inibiram perda óssea em comparação com a taxa de perda óssea do período de pré-tratamento, no entanto, essa inibição significativa foi maior para o flurbiprofeno aplicado topicamente, seguido pela liberação sustentada de ibuprofeno e ibuprofeno 4,0mg/kg.

LI *et al.*, 1996, estudaram o efeito do cetoprofeno, na forma de creme, no tratamento da doença periodontal experimental e ocorrendo naturalmente em macacos, durante um período de 6 meses, por meio de parâmetros clínicos, radiográficos e do fluido crevicular. Foram utilizadas duas formulações contendo cetoprofeno a 1%, com e sem vitamina E, aplicadas topicamente uma vez ao dia, comparadas ao grupo controle (placebo). Os resultados da avaliação clínica para formação de placa, edema, vermelhidão gengival, sangramento e profundidade de sondagem não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos. Por meio da subtração radiográfica, os grupos tratados com o cetoprofeno, nas diferentes formulações, apresentaram efeitos positivos significantes no tecido ósseo comparados ao controle, mostrando um aparente ganho ósseo aos 3 e 6 meses, não estatisticamente significativo, nos animais com ligadura, enquanto que para os animais com doença periodontal ocorrendo naturalmente, houve uma inibição da perda óssea, porém, o aparente ganho ósseo não mostrou diferença significativa. Quanto aos níveis bioquímicos no fluido crevicular, o LTB_4 apresentou uma

diminuição precoce e significativa no primeiro mês, enquanto que a PGE₂ aos 2 e 3 meses. Os autores puderam concluir que a aplicação tópica do cetoprofeno pode inibir os níveis de LTB₄ e PGE₂ e alterar a atividade óssea alveolar em modelo de periodontite experimental.

O primeiro estudo com o objetivo de avaliar o efeito de um inibidor seletivo de COX-2, meloxicam, na prevenção da reabsorção óssea alveolar em modelo de periodontite experimental bilateralmente, foi realizado por BEZERRA *et al.*, 2000, utilizando 48 ratos Wistar, comparando a indometacina, um antiinflamatório não esteroideal convencional. O meloxicam foi administrado diariamente nas concentrações de 0,75, 1,5 e 3mg/kg, enquanto que a indometacina nas concentrações de 0,5, 1 e 2 mg/kg, subcutaneamente por um período de 7 dias, após os quais os animais foram sacrificados para análise macroscópica e histológica. Os resultados mostraram que, para o grupo controle, houve significativa reabsorção óssea alveolar, presença de um severo infiltrado de células mononucleares e aumento do número de osteoclastos. Para o grupo tratado com as drogas, observou-se uma inibição da perda óssea alveolar associada a uma redução do infiltrado mononuclear e do número de osteoclastos, bem como inibição da neutrofilia e linfocitose a valores semelhantes ao grupo controle, porém, sem diferenças entre si.

HOLZHAUSEN, em 2002, realizou uma análise histológica e radiográfica, utilizando um inibidor específico de COX-2, Celecoxib, no tratamento da doença periodontal experimental em 180 ratos Wistar. A droga foi administrada diariamente, via oral, nas concentrações de 10 e 20mg/kg nos períodos de 5, 18 e 30 dias. Os resultados mostraram que o celecoxib, em ambas concentrações, diminuiu a atividade de reabsorção óssea alveolar e diminuiu o número de osteoclastos em relação ao grupo que não recebeu a droga aos 30 dias. E no período inicial (5 dias), para o grupo controle, o infiltrado inflamatório foi predominante agudo e nos períodos de 18 e 30 dias um infiltrado crônico era predominante. Já nos animais tratados com celecoxib, houve uma diminuição do processo inflamatório agudo no período inicial e uma exacerbação nos períodos

mais tardios. Radiograficamente, os resultados mostraram que a droga exerceu um efeito positivo sobre a redução da perda óssea alveolar nos períodos de 5 e 18 dias, no entanto, ao final do experimento, (30 dias), não houve diferença significativa na média da perda óssea entre os grupos.

2.8.2 Estudos em humanos

A evidência de que antiinflamatórios não esteroidais são efetivos em reduzir a progressão da doença periodontal tem sido bem estabelecida em estudos animais. Atualmente, existem evidências em humanos que também demonstram tal atividade inibidora.

Em 1981, WAITE *et al.* avaliaram a prevalência da doença periodontal em pacientes que tomavam antiinflamatórios não esteroidais regularmente, por no mínimo um ano, comparado a indivíduos que não tomavam. Os resultados demonstraram que os pacientes que tomavam drogas antiinflamatórias não esteroidais para o tratamento da artrite reumatóide e espondilite anquilosante apresentaram uma redução do índice gengival, diminuição da profundidade de sondagem e redução da perda de inserção comparada aos indivíduos do grupo controle. Segundo os autores, a utilização de antiinflamatórios não esteroidais pôde ter influenciado na resposta dos tecidos periodontais ao biofilme por meio da redução da concentração das prostaglandinas nos tecidos.

WILLIAMS *et al.*, em 1989, procuraram avaliar o efeito do flurbiprofeno na diminuição da perda óssea alveolar em pacientes, por meio de avaliação radiográfica, durante um período de 2 anos. Após um período de 6 meses de pré-tratamento para se calcular a porcentagem de osso alveolar remanescente, 44 pacientes foram distribuídos em dois grupos: indivíduos que receberam flurbiprofeno (50mg, duas vezes ao dia) e indivíduos que receberam placebo. No início do tratamento e a cada 6 meses, os pacientes receberam raspagem e alisamento radicular e profilaxia dental, onde foi avaliado o índice de sangramento e radiografias realizadas. Os resultados do estudo mostraram uma melhora da inflamação gengival em todos os períodos e para os dois grupos. Ao avaliar a taxa

de perda óssea alveolar radiograficamente, observou-se que nos pacientes que receberam o placebo, houve uma diminuição da taxa de perda óssea aos 6 e 12 meses, quando comparado ao *baseline*, no entanto, esta diminuição não se sustentou aos 18 meses. Enquanto que no grupo tratado com o flurbiprofeno, a taxa de perda óssea foi significante menor aos 6, 12 e 18 meses em relação ao *baseline*, mas ao 24 meses, houve um retorno à taxa de perda óssea aos níveis do pré-tratamento, para ambos os grupos.

Em 1990, HEASMAN & SEYMOUR, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a associação em longo prazo entre a terapia com antiinflamatório não esteroide e a severidade da doença periodontal. Cinquenta pacientes que tomavam antiinflamatórios não esteroidais para tratamento da artrite reumatóide foram acompanhados por um período de 9 anos, por meio dos parâmetros clínicos periodontais (Índice de placa, gengival, profundidade de sondagem, retração gengival, perda de inserção, reabsorção óssea e fluxo do fluido crevicular), os quais não demonstraram diferenças significativas tanto para o grupo que tomava o medicamento como o controle, exceto o fluxo do fluido crevicular que apresentou valores maiores para este último. Estes dados podem ser justificados em razão da similaridade entre a severidade da doença em ambos os grupos, em que o efeito da terapia com o antiinflamatório pôde não ser observado.

RUTTIMANN *et al.*, em 1991, realizaram um estudo por um período de 12 meses procurando avaliar a eficácia do flurbiprofeno (50 mg) na diminuição da perda óssea alveolar em pacientes com periodontite crônica do adulto de moderada a severa, por meio de subtração radiográfica. Os resultados da subtração digital mostraram mudanças do tecido ósseo aos 12 meses do estudo, em que 27% dos pacientes que receberam a droga apresentaram perda em um ou mais sítios enquanto que 82% dos pacientes do grupo que receberam o placebo apresentaram perda óssea no exame radiográfico e apenas um paciente, que

recebeu o flurbiprofeno, apresentou ganho ósseo em vários sítios durante o experimento.

WILLIAMS *et al.*, em 1991, em um estudo longitudinal de três anos, apresentaram os dados da avaliação do período de 6 meses pós-tratamento com o flurbiprofeno. O estudo inicial contava com 44 pacientes (WILLIAMS *et al.*, em 1989), contudo, para a avaliação do período pós-tratamento, após suspensão da droga, apenas 33, deste total de pacientes com periodontite moderada, permaneceram no estudo e foram avaliados. Para o grupo tratado com o placebo no período pós-tratamento, a perda óssea aumentou 36%, comparada ao período anterior (24 meses), não sendo significativo. Entretanto, para o grupo tratado com o medicamento, a perda óssea foi semelhante ao *baseline*, no período pré-tratamento, sugerindo que o efeito inibidor do flurbiprofeno sobre a perda óssea é perdido quando da suspensão da administração.

Estudando o efeito do naproxeno (500mg, duas vezes ao dia) como adjunto à raspagem e alisamento radicular no tratamento de pacientes com periodontite de progressão rápida, JEFFCOAT *et al.*, em 1991, procuraram avaliar mudanças na arquitetura óssea por meio de radiografias padronizadas, do metabolismo ósseo via captação de um radiofármaco (^{99m}Tc -metileno difosfonato) administrado antes do tratamento e 3 meses depois, e por meio de subtração radiográfica digital. Os resultados mostraram que houve uma redução significativa da perda óssea observada pela análise da altura óssea nos pacientes que receberam o naproxeno (+0,27mm) quando comparado ao grupo placebo (-0,14mm). Observou-se também uma significativa diminuição na captação do radiofármaco no osso alveolar, antes e depois do tratamento com o naproxeno, o que representa menor renovação óssea e indica menor atividade de doença, enquanto que nenhuma mudança foi observada no grupo placebo. E ainda, a subtração radiográfica do grupo tratado mostrou um significativo aumento na proporção de dentes que apresentavam ganho ósseo.

O primeiro estudo avaliando o efeito de um antiinflamatório não esteroide sistêmico, flurbiprofeno, sobre os níveis de PGE_2 e TXB_2 no fluido

crevicular em humanos foi realizado por ABRAMSON *et al.*, em 1992. Pacientes com gengivite a periodontite precoce foram divididos em 2 grupos, dos quais um recebeu 100mg de flurbiprofeno 3 vezes ao dia e o outro grupo recebeu placebo, durante um período de 57 dias, sem profilaxia dental. Os resultados demonstraram que no grupo placebo, os níveis de PGE₂ e TXB₂ não apresentaram diferenças significativas nos diferentes períodos de avaliação, do *baseline* ao período pós-tratamento; no entanto esses níveis foram significativamente maiores que o grupo tratado com a droga. Para este último, os níveis de PGE₂ e TXB₂ apresentaram uma diminuição significativa no período de tratamento, contudo, no período pós-tratamento (uma semana após), tais níveis aumentaram significativamente, retornando aos valores do *baseline*, não havendo diferenças em relação ao grupo placebo. Desta forma, os autores demonstraram que o flurbiprofeno não apresentou efeitos na manutenção dos níveis diminuídos de PGE₂ e TXB₂ após a suspensão da administração.

HEASMAN *et al.*, em 1993b, avaliaram a utilização do flurbiprofeno aplicado topicamente como adjunto ao tratamento não-cirúrgico em pacientes com doença periodontal crônica de moderada a avançada, durante um período de 12 meses. Nos 3 primeiros meses os pacientes receberam instruções de higiene oral e raspagem e alisamento radicular. Os indivíduos do grupo teste utilizaram creme dental contendo 1% de flurbipreno (2 vezes ao dia), enquanto que o grupo controle recebeu um creme placebo. Os parâmetros clínicos periodontais foram registrados a cada 3 meses e tomadas radiográficas no *baseline* e aos 12 meses. Os resultados mostraram que a melhora nos parâmetros clínicos não apresentou diferenças significativas para ambos os grupos. No entanto, o grupo tratado com o creme dental contendo flurbiprofeno mostrou uma proporção significativamente maior de sítios que apresentaram ganho ósseo (8,0%) do que o grupo controle (3,3%). Também não foi observada diferença significativa no número de sítios que apresentaram perda óssea ou nenhuma mudança para ambos os grupos.

HEASMAN *et al.*, em 1993c, avaliaram o efeito do flurbiprofeno (50mg, duas vezes ao dia) na prevenção da gengivite experimental, durante 21 dias, e o

efeito no tratamento, 7 dias após a gengivite estabelecida. Por meio da análise dos níveis de PGE_2 , TXB_2 e LTB_4 no fluido crevicular, os autores puderam observar que o antiinflamatório inibiu o desenvolvimento da vermelhidão e sangramento gengival, o qual estava associado com a diminuição do TXB_2 , mas não sobre a PGE_2 . O efeito da droga no tratamento da gengivite estabelecida mostrou diminuição no sangramento, mas não afetou a vermelhidão gengival, e ainda diminuiu os níveis dos três mediadores avaliados.

Avaliando a inibição da perda óssea em pacientes com periodontite crônica, JEFFCOAT *et al.*, em 1995, compararam o efeito do ketorolac tópico 0,1% (bochecho), flurbiprofeno sistêmico (50mg, duas vezes ao dia) e placebo durante um período de 6 meses, os quais receberam profilaxia e instruções de higiene oral, bem como tomadas radiográficas a cada 3 meses. Por meio de incorporação de um marcador radioativo (99m-Tc difosfonato) e subtração radiográfica digital, os resultados mostraram, ao final de 6 meses, uma significativa perda na altura óssea no grupo placebo (-0,63mm), enquanto que os grupos tratados com o ketorolac tópico (+0,21mm) e o flurbiprofeno sistêmico (-0,1mm) apresentaram menor perda óssea aos 3 e 6 meses de tratamento, no entanto, o ketorolac preservou 0,3mm mais osso alveolar do que o flurbiprofeno, bem como menor densidade óssea alveolar. Em relação às outras variáveis, observou-se uma tendência ao ganho de inserção clínica para todos os tratamentos (média de 0,4mm), houve significativa diminuição da profundidade de sondagem (média de 1mm), do índice gengival e índice de placa, porém sem diferenças significativas entre os grupos. Para os níveis de PGE_2 no fluido crevicular, os grupos que receberam as drogas apresentavam menores níveis, os quais estavam associados com menores perdas ósseas alveolares.

Poucos estudos na literatura demonstram a participação de certas moléculas (OPG, RANKL e RANK), membros da família do fator de necrose tumoral, como moduladores da função e diferenciação dos osteoclastos. A utilização de antiinflamatórios não esteroidais tem mostrado inibir a perda óssea in vivo (WILLIAMS *et al.*, 1984, 1988) e reabsorção óssea in vitro (GOLDHABER *et*

al., 1973; GOODSON *et al.*, 1974) e está associado com a separação dos osteoclastos da superfície óssea (O'BRIEN *et al.*, 2001). Os antiinflamatórios não esteroidais inibem a PGE₂ e conseqüentemente a diferenciação osteoclástica, onde OPG é produzida e se liga ao RANKL na superfície das células da linhagem osteoblásticas, bloqueando a sua ligação com o RANK, na superfície dos osteoclastos.

2.9 Inibidores Seletivos da Cicloxigenase-2

A eficácia terapêutica e os efeitos adversos associados com utilização dos antiinflamatórios não esteroidais ocorrem como resultado da inibição da enzima cicloxigenase e conseqüente inibição das prostaglandinas (EMERY, 1996).

A maioria dos antiinflamatórios não esteroidais disponíveis (aspirina, indometacina, piroxicam, salicilatos) apresentam sua ação por meio da inibição da síntese de COX-1 e COX-2 pelas células, porém mais sobre a COX-1 (EMERY, 1996). Entretanto, tal enzima exerce efeitos fisiológicos sobre o organismo (mucosa gástrica, plaquetas, endotélio e rins), regulando a atividade celular normal e a sua inibição bem como o uso prolongado destas drogas pode trazer conseqüências prejudiciais para a integridade desses sistemas (VANE & BOTTING, 1995), como desconforto, úlceras e hemorragia gastrointestinal (GABRIEL & BOMBARDIER, 1990; EMERY, 1996) e insuficiência renal (EMERY, 1996).

A COX-2 encontra-se em pequenas quantidades ou praticamente ausente em tecidos saudáveis. Sob condições fisiológicas, a ativação da COX-1 nas plaquetas, endotélio, mucosa gástrica e rins, resulta na liberação de TXA₂, PGI₂ e PGE₂. A liberação destes eicosanóides é seletivamente inibida por drogas semelhantes à aspirina. Sob estímulos inflamatórios, a presença de endotoxinas bacterianas (LPS) e a liberação de citocinas inflamatórias (IL-1, FNT α) e de fatores de crescimento induz a síntese de COX-2 pelos macrófagos, mas não de COX-1, resultando na liberação de prostaglandinas e que juntamente com proteases e outros mediadores inflamatórios promovem a inflamação. A via pela COX-2 pode

ser interrompida em vários níveis por antagonistas ou anticorpos de citocinas, inibidores da indução de COX-2 ou inibidores seletivos de COX-2 (VANE & BOTTING, 1995).

Desta forma, em razão dos perfis farmacológicos distintos entre as enzimas COX-1 e COX-2 é que novas drogas antiinflamatórias vêm sendo pesquisadas com a finalidade de bloquear preferencialmente a enzima COX-2, produzida a partir de estímulos inflamatórios, sob condições patológicas, minimizando os efeitos colaterais nos tecidos, o que confere uma maior eficácia e segurança quando da utilização da droga, beneficiando o tratamento de doenças inflamatórias crônicas (GIERSE *et al.*, 1995; EMERY, 1996).

Atualmente, à medida que as pesquisas vão sendo realizadas sobre o papel fisiológico dos produtos na cascata do ácido araquidônico, torna-se cada vez mais evidente que a ativação de COX-1 também tem seu papel na gênese da resposta inflamatória e, por outro lado, que a ativação de COX-2 nem sempre está vinculada a processos patológicos (LARA, 1998). MORHAM *et al.*, em 1995, estudaram em camundongos nocautes, o papel da enzima COX-2 nos fenômenos biológicos dos animais, por meio de técnica de biologia molecular, e observaram que os animais que não apresentavam o gene para COX-1 sobreviveram sem problemas e aqueles animais que não possuíam o gene para a COX-2, ou nasceram mortos ou com sérios problemas renais e susceptíveis a desenvolver peritonite. Desta forma, os autores concluíram que a enzima COX-2 também participa em determinados processos fisiológicos.

Utilizando modelos de inflamação crônica em conjunto com modelos de dano à mucosa gástrica, as drogas que apresentavam uma atividade preferencial pela COX-2 foram denominados posteriormente de inibidores seletivos de COX-2 (Meloxicam, BF 389, DuP-697, NS-398, SC 58125). Estes inibidores altamente seletivos podem apresentar uma atividade até 1000 vezes maior do que os antiinflamatórios não esteroidais convencionais para COX-1 (VANE & BOTTING, 1995). Sua capacidade inibitória sobre a formação de prostaglandinas derivadas

da COX-2 resulta em pouco ou quase nenhum efeito sobre a formação de prostaglandinas derivadas da COX-1 (MARNETT & KALGUTKAR, 1999).

Estudando a artrite induzida em ratos, ANDERSON *et al.*, em 1996, demonstraram que a enzima COX-2 possui um papel importante na inflamação e que a administração de um inibidor seletivo de COX-2 diminuiu o edema e os níveis de PGE₂ nos tecidos sinoviais, bem como reduziu os níveis de IL-6, do infiltrado inflamatório celular e a expressão do RNAm para COX-2 e IL-6, indicando que tais drogas também exercem efeito seletivo anti-citocina.

Em 2001, MORTON & DONGARI-BAGTZOGLOU avaliaram a expressão dos níveis de COX-2 em tecidos gengivais inflamados e saudáveis, por meio de uma análise imunohistoquímica, e puderam observar que esta expressão foi significativamente maior em tecidos com altos níveis de infiltrado inflamatório, no entanto, não foi observada esta expressão em tecidos saudáveis. Em cultura com células fibroblásticas, a atividade da COX-2 estava aumentada principalmente na presença do desafio bacteriano e de citocinas (IL-1 β). E que a utilização de um inibidor seletivo de COX-2 (NS-398) praticamente inibiu a síntese de PGE₂ pelos fibroblastos, demonstrando esta substância ser regulada pela expressão da COX-2. Os dados deste estudo sugerem que um dos mecanismos patogênicos da doença periodontal inflamatória crônica, *in vivo*, pode ser a síntese de COX-2 em resposta ao desafio bacteriano e a interleucina-1.

Os agentes inibidores de COX-2 têm sido alvo de diversas pesquisas na literatura mundial, em diversas áreas como reumatologia, oncologia, gastroenterologia e têm se tornado uma nova opção terapêutica para pacientes que os utilizam por períodos prolongados, melhorando a qualidade de vida dos pacientes portadores de doenças crônicas (MARNETT & KALGUTKAR, 1999). A doença periodontal, por seu curso crônico, apesar de não ser debilitante e nem provocar morbidade e mortalidade, também tem sido alvo de pesquisas em estudos experimentais em animais utilizando antiinflamatórios inibidores de COX-2 (BEZERRA *et al.*, 2000; HOLZHAUSEN, 2002).

2.10 Meloxicam

O meloxicam é um dos mais potentes antiinflamatórios não esteroidais que apresenta uma das mais altas proporções de atividade sobre a COX-2, desenvolvidos inicialmente para o tratamento da artrite reumatóide e osteoartrite (EMGELHARDT *et al.*, 1995; NOBLE & BALFOUR, 1996).

É uma nova droga antiinflamatória não esteroidal e pertence ao grupo das oxicanas, recentemente introduzido no mercado farmacêutico brasileiro e que tem a característica de seletividade pela inibição da via COX-2 quase dez vezes superior ao diclofenaco e cem vezes maior que a do piroxicam. Isto justifica uma melhor tolerabilidade, preservando o organismo de reações adversas ligadas à excessiva inibição de COX-1, particularmente no estômago e rins. Além de que sua eliminação é mais rápida, em razão da meia-vida plasmática alta, sendo suficiente uma única dose diária (LARA, 1998; ANDRADE, 2000).

EMGELHARDT *et al.*, em 1995, compararam o meloxicam com outras drogas antiinflamatórias não esteroidais em relação aos seus efeitos farmacodinâmicos característicos em ratos, como atividade antiinflamatória, analgésica, anti-pirética e ulcerogênica. Os resultados demonstraram que o meloxicam apresentou um potencial terapêutico maior do que o piroxicam, indometacina, diclofenaco e naproxeno. O seu efeito sobre a síntese de prostaglandinas na mucosa gástrica foi menor do que as drogas testadas, sendo mais bem tolerada, e a sua inibição preferencial de COX-2 explicaram a maior capacidade antiinflamatória do meloxicam, suportando a sua utilização terapêutica.

Avanços vêm sendo feitos em diversas áreas que envolvem a utilização de inibidores seletivos da COX-2, na tentativa de esclarecer melhor os efeitos desta enzima nos tecidos, saudáveis ou inflamados, procurando avaliar os riscos e benefícios aos humanos, bem como os mecanismos de ação que envolvem a inibição da COX-2 por tais inibidores.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, histometricamente, a influência de uma droga antiinflamatória não esteroideal seletiva para COX-2, meloxicam, sobre a perda óssea inter-radicular bem como o seu efeito após a suspensão da administração, na periodontite experimental em ratos.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais Utilizados

Foram utilizados 75 ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar, SPF), machos, pesando no início do experimento entre 250 e 350 gramas, com idade aproximada de 10 semanas, provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos no biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp, sob as mesmas condições ambientais, em gaiolas plásticas, com 5 animais em cada gaiola e tratados com ração para animais de laboratório (Purina - Nuvilab CR-1 autoclavável; Nuvital, SP, Brasil) e água “*ad libitum*”.

Todos os procedimentos foram executados de acordo com as normas éticas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEa) do Instituto de Biologia da Unicamp - Bioterismo da Unicamp (CEMIB) sob o protocolo de número 265-2 (Anexos).

4.2 Anestesia e Colocação das Ligaduras

Inicialmente os animais foram pesados para que se calculasse a correta dosagem do anestésico geral a ser administrado. Após a sedação inicial com éter sulfúrico os animais foram anestesiados, por meio de injeção intramuscular de cloridrato de xylasina (Virbaxyl®2% - Virbac do Brasil Ind. e Com. LTDA - 0,3 ml/Kg) e ketamina (Francotar® - Virbac do Brasil Ind. e Com. LTDA - 1ml/Kg).

Após o procedimento de anestesia, os animais foram posicionados em aparato de Doku modificado (DOKU, 1966) (Figura 1). A boca do animal foi mantida aberta por meio de bandas elásticas presas aos incisivos inferiores e a língua afastada com o auxílio de um fio de algodão (Figura 1). Um afastador foi utilizado para obter acesso à região dos molares do animal. Foi colocada uma ligadura de fio de algodão (Corrente Algodão nº 10; Coats Corrente, SP, Brasil) pelo espaço interproximal (Figura 2), em torno do 1º molar inferior, aleatoriamente selecionado, ao nível do sulco gengival (Figura 3), de acordo com técnica descrita

por JONHSON, em 1975. O fio de algodão favoreceu o acúmulo de biofilme no dente teste, enquanto que o dente contralateral serviu de controle.

Em seguida ao procedimento de colocação das ligaduras, as quais foram mantidas até o final do experimento, os animais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos e receberam distintos tratamentos.



Figura 1 - Animal posicionado em aparato de Doku modificado. Uma banda elástica presa aos incisivos inferiores e um fio de algodão laçando a língua facilitam o acesso à cavidade bucal.

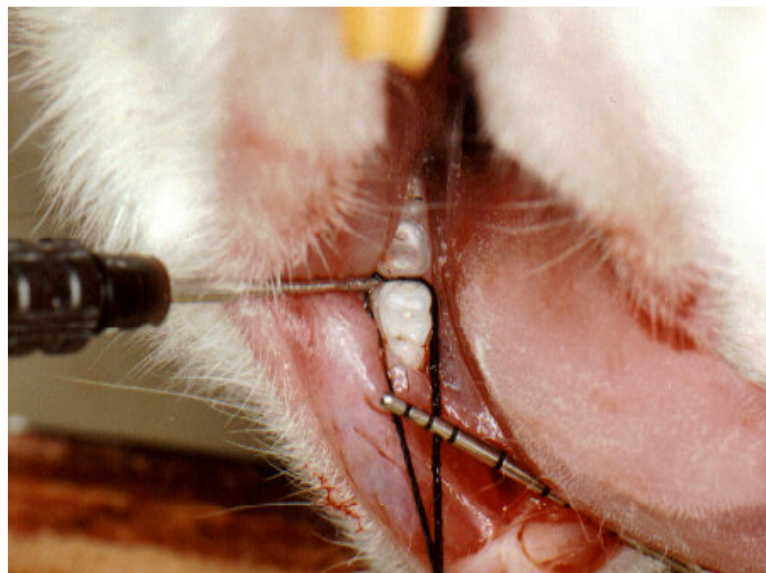


Figura 2 - Fio de algodão posicionado na região interproximal entre o primeiro e o segundo molar inferior do animal.

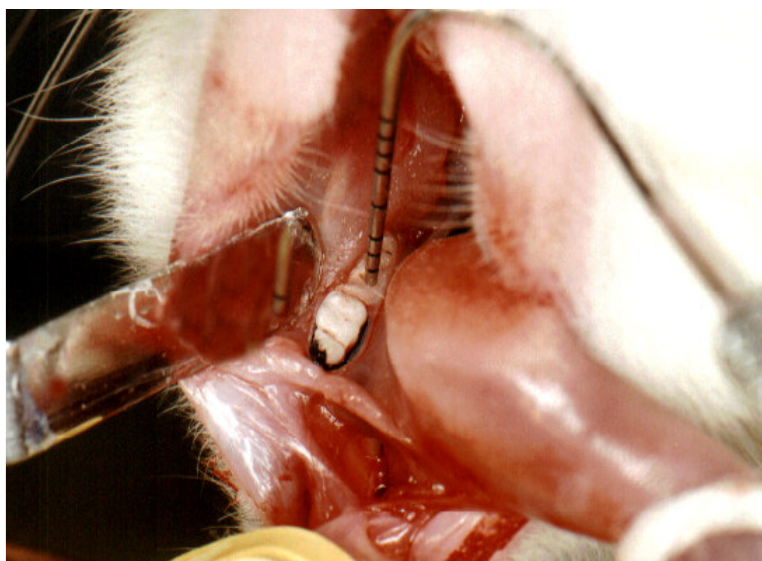


Figura 3 - Fio amarrado no nível do sulco gengival – ligadura finalizada

4.3 Constituição dos Grupos

- Grupo 1A e 1B – Ligadura + Solução Salina Estéril

Trinta animais receberam as ligaduras. Foi administrada, via subcutânea, solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% (Glicolabor® - Indústria Farmacêutica – São Paulo/Brasil) no volume de 1ml/kg de peso, diariamente, nos períodos de 15 (**G1A**) e 45 dias (**G1B**).

- Grupo 2A e 2B– Ligadura + Meloxicam

O antiinflamatório não esteroideal utilizado foi o meloxicam (Movatec® - Boehringer Ingelheim do Brasil Química e Farmacêutica Ltda., Itapeverica da Serra, SP, Brasil) (**Figura 4**). Trinta animais receberam as ligaduras e imediatamente a sua colocação, foi administrado, via subcutânea, a dosagem de 3 mg/kg de peso de meloxicam, diariamente, durante os períodos de 15 (**G2A**) e 45 dias (**G2B**).

- Grupo 3 – Ligadura + meloxicam + solução salina estéril

Quinze animais foram tratados com o meloxicam, na dose de 3mg/kg, durante um período de 15 dias após a indução da doença, após o qual, foi suspenso o tratamento, sendo substituído pela administração de solução salina estéril até o 45º dia (**G3**), com o objetivo de verificar o efeito remanescente do antiinflamatório após a sua suspensão.



Figura 4 – Meloxicam (Movatec® - Boehringer Ingelheim do Brasil, São Paulo, SP)

4.4 Processamento Histológico

Os animais foram sacrificados, por aprofundamento da anestesia, como descrito anteriormente, depois de completados os períodos determinados para o experimento. As mandíbulas, dissecadas e divididas pela sínfise mandibular em hemi-mandíbulas, foram processadas rotineiramente em laboratório através da fixação em formol a 4 % em tampão fosfato (pH 7,2 - 7,4). A descalcificação foi realizada em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50% em partes iguais (solução de Morse). Segundo o procedimento laboratorial de rotina, o descalcificador foi renovado a cada três dias durante 60 dias. Ao final desse período, o osso já fixado e descalcificado, foi desidratado em álcool absoluto, diafanizado em xilol e incluído em parafina. Secções longitudinais seriadas com 6 μ m de espessura, no sentido méso-distal, foram obtidas e coradas por hematoxilina e eosina.

4.5 Análise Histométrica

O volume de perda óssea inter-radicular na região de bifurcação foi determinado utilizando-se o princípio de Cavalieri segundo as recomendações de GUNDERSEN & JENSEN, em 1987, e GUNDERSEN *et al.*, em 1999. Escolhida a orientação de corte (mesio-distal) mais conveniente para a delimitação da região da bifurcação dos primeiros molares mandibulares, foram obtidos cortes seriados de 6 µm de espessura a partir da tábua óssea vestibular e foram separados os cortes nos quais a região da bifurcação foi identificada, após o término da raiz lingual. Para a estimativa de volume foi desprezado o primeiro corte, selecionando-se os demais distanciados regularmente entre si de modo a obtermos no mínimo 10 cortes por dente. Utilizando-se o sistema de pontos de um retículo quadriculado (Image-Pro®; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA), foi mensurada a área de tecido conjuntivo proveniente da destruição do tecido ósseo na região da bifurcação dos dentes. O número mínimo de pontos por cortes foi calculado pela fórmula: $\text{perímetro}/\sqrt{\text{área}}$ e o nomograma de GUNDERSEN & JENSEN, em 1987. Conforme o coeficiente de erro a ser calculado, o número de pontos poderia ser ampliado de acordo com as recomendações de GUNDERSEN *et al.*, em 1999. O retículo foi posicionado de maneira que sempre incluísse dentina coronária e radicular e o tecido ósseo, sendo computados os pontos que coincidiam com o tecido conjuntivo presente na região da bifurcação em consequência da perda de inserção periodontal na região inter-radicular (**Figura 5**). O volume foi calculado utilizando-se a fórmula:

$$m-1$$

$$V=t.\Sigma a_i$$

$$i = 1$$

Onde "t" representa a distância entre os cortes (incluindo a espessura do próprio corte), "m" o número de cortes por espécime e "a_i" representa a área mensurada em cada corte.

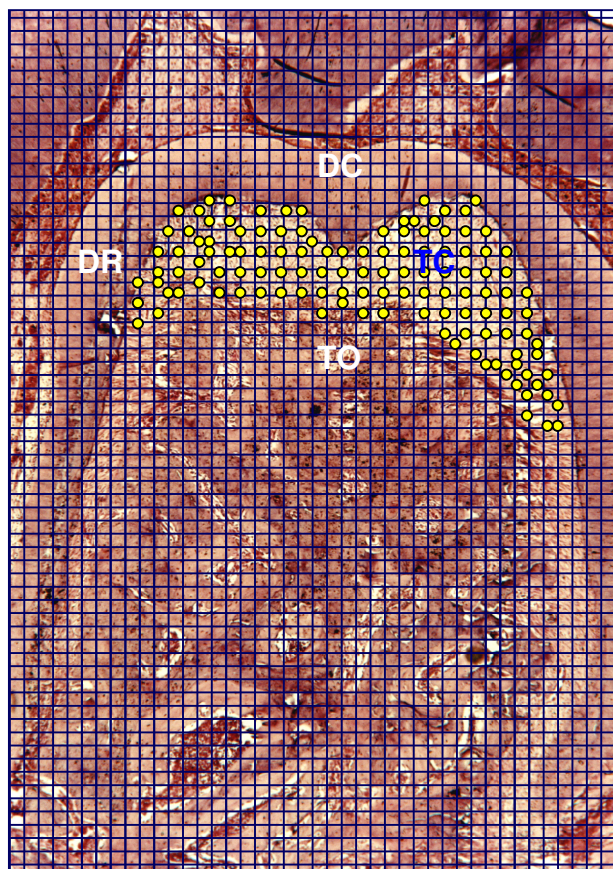


Figura 5 - Imagem digitalizada do corte histológico e retículo quadriculado posicionado sobre a região inter-radicular. A região pontilhada coincide com o tecido conjuntivo (TC) sob a furca, delimitado por dentina coronária (DC), dentina radicular (DR) e o tecido ósseo (TO).

4.6 Análise Estatística

Este experimento considerou a perda óssea inter-radicular como variável de resposta, sendo do tipo quantitativa e o fator em estudo foi o tratamento submetido, como definido anteriormente. Foi obtido o volume da perda óssea inter-radicular individualmente em cada dente testado, calculando-se o coeficiente de erro para cada amostra segundo GUNDERSEN & JENSEN, em 1987, e GUNDERSEN *et al.*, em 1999, a partir dos quais foi obtida a média por animal. Estes valores individuais foram relacionados dentro do grupo correspondente (15 médias por grupo) e os dados analisados estatisticamente. Para a análise intra-grupo, ou seja, comparando a perda óssea do dente com ligadura com o dente sem ligadura, foi utilizado o teste não-paramétrico Mann-Whitney. Enquanto que a comparação inter-grupo para o efeito da droga nos diferentes períodos foi aplicado o teste de Análise de Variância não-paramétrico Kruskal-Wallis, adotando-se $\alpha=0,05$. O teste de Dunn para comparações múltiplas foi utilizado quando o teste Kruskal-Wallis mostrou diferenças significantes.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

5 RESULTADOS

5.1 Observações Clínicas:

Após a colocação das ligaduras os animais não apresentaram dificuldades para ingestão da ração, e o reparo dos tecidos peri-bucais ocorreu normalmente. Nos locais de aplicação dos anestésicos, com certa frequência houve necrose envolvendo pele e planos musculares, porém sem limitação dos movimentos do animal.

Clinicamente, no dia do sacrifício, observou-se que os dentes que receberam ligadura, de uma forma geral, apresentaram alterações gengivais, como aumento de volume e em certas regiões, as porções cervicais e a região de furca apresentavam-se expostas. Na região interproximal, as papilas encontravam-se achatadas em razão da presença da ligadura. Estas observações não foram encontradas nos dentes que não receberam a ligadura.

5.2 Resultados Histométricos:

5.2.1 Análise intra-grupo:

A análise intra-grupo revelou uma diferença estatisticamente significativa no volume da perda óssea inter-radicular ($P < 0,05$) entre os dentes com e sem ligadura para todos os grupos experimentais, o que mostra que as ligaduras colocadas ao redor dos dentes foram capazes de produzir periodontite, como ilustrada pela Figura 8. As médias do volume em μm^3 (micrometros cúbicos) e o desvio padrão, com e sem ligadura respectivamente, para os grupos foram: G1A ($9,01 \pm 3,16$ e $2,32 \pm 1,06$); G1B ($6,86 \pm 3,59$ e $2,09 \pm 0,93$); G2A ($5,83 \pm 2,04$ e $2,31 \pm 0,81$); G2B ($3,59 \pm 1,57$ e $1,80 \pm 0,75$) e G3A ($6,09 \pm 2,66$ e $2,37 \pm 0,88$) (Tabela 1, Anexos). Nas figuras 11, 12, 13, 14 e 15 pôde-se observar uma maior área de perda óssea na região inter-radicular nos dentes com ligadura **(a)**, quando comparada à mesma região nos dentes sem ligadura **(b)**, de acordo com os grupos.

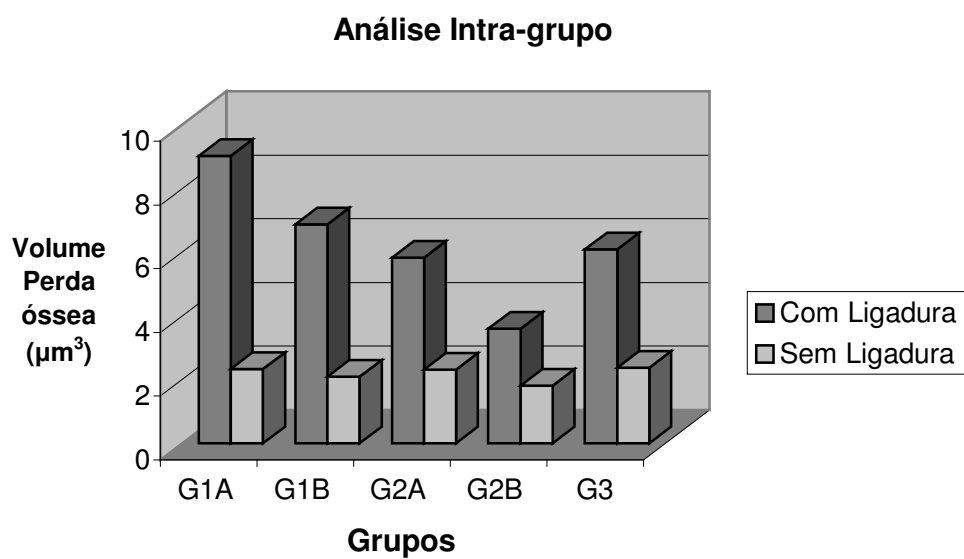


Figura 8 – Média do volume da perda óssea inter-radicular e do ligamento periodontal (μm^3) nos dentes com e sem ligadura, respectivamente, de acordo com cada grupo. As diferenças estatísticas devem ser consideradas entre os dentes com e sem ligadura.

5.2.2 Análise inter-grupo:

A análise inter-grupo para os dentes dos animais sem ligadura que receberam os diferentes tratamentos não apresentou diferenças estatísticas entre si (Figura 9). As médias e o desvio padrão do volume do ligamento periodontal em μm^3 para os grupos foram: G1A ($2,32 \pm 1,06$); G1B ($2,09 \pm 0,93$); G2A ($2,31 \pm 0,81$); G2B ($1,80 \pm 0,75$) e G3A ($2,37 \pm 0,88$). Os valores individuais para cada dente com e sem ligadura, seguidos das médias e desvio-padrão para todos os grupos, estão expressas na tabela 1 (Anexos).

As médias e o desvio padrão do volume de perda óssea em μm^3 para os dentes que receberam ligadura, segundo os grupos, foram: G1A ($9,01 + 3,16$); G1B ($6,86 + 3,59$); G2A ($5,83 + 2,04$); G2B ($3,59 + 1,57$) e G3A ($6,09 + 2,66$). Na análise intergrupos para os animais que receberam solução salina mostrou que não houve diferenças estatísticas significativas no volume de perda óssea inter-radicular ($P > 0,05$), nos períodos de 15 (G1A) e 45 (G1B) dias (Figura 10 e Tabelas 2 e 3 em Anexos).

Para os animais que receberam o meloxicam aos 15 (G2A) e 45 dias (G2B), houve uma diferença estatística significativa quanto ao volume da perda óssea inter-radicular ($P < 0,05$), em que os animais deste último grupo apresentaram menor volume de reabsorção óssea quando comparado aos animais que receberam por 15 dias (G2A) (Figura 10).

Avaliando o efeito do antiinflamatório (G2A) em relação ao grupo que recebeu solução salina (G1A), no período de 15 dias e aos 45 dias (G1B e G2B), houve uma diminuição estatisticamente significativa da reabsorção óssea nos animais do grupo que receberam o meloxicam ($P < 0,05$), mostrando uma diminuição da perda óssea (Figura 10).

Em relação ao efeito remanescente do antiinflamatório, ao ser suspensa a administração do meloxicam após 15 dias de aplicação (G3), não se observou diferença estatística significativa ($P > 0.05$) no padrão de reabsorção óssea quando comparado o seu efeito com o grupo que recebeu apenas solução salina estéril (G1B) também por 45 dias, demonstrando que a droga não exerceu efeito residual sobre a perda óssea, apresentando um volume de perda óssea semelhante ao grupo que não a recebeu. Ao compará-lo com o grupo tratado com a droga no período de 45 dias (G2B), também se observou uma diferença estatística significativa ($P < 0,05$), mostrando que após a suspensão da droga, os animais continuaram a perder osso na região inter-radicular (Figura 10).

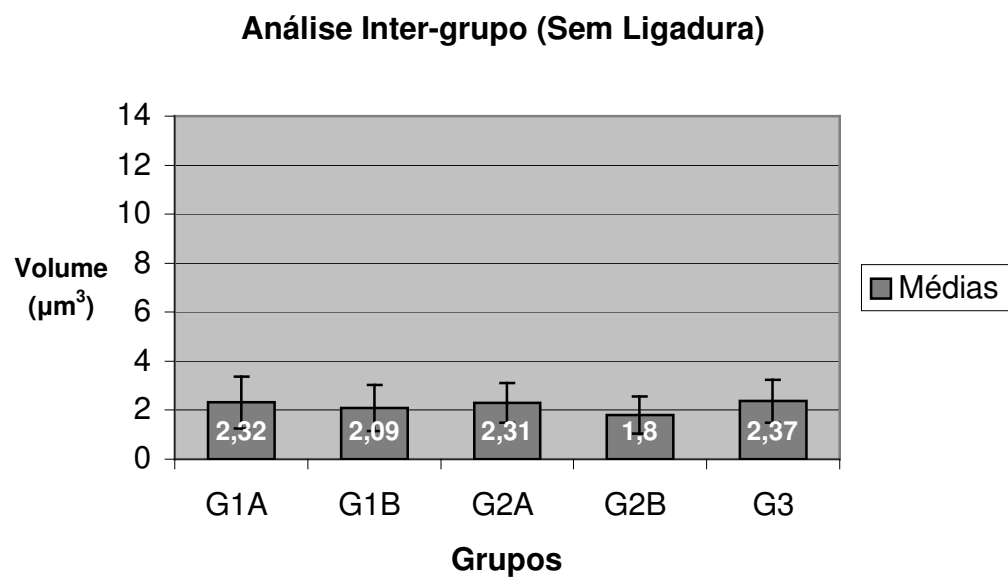
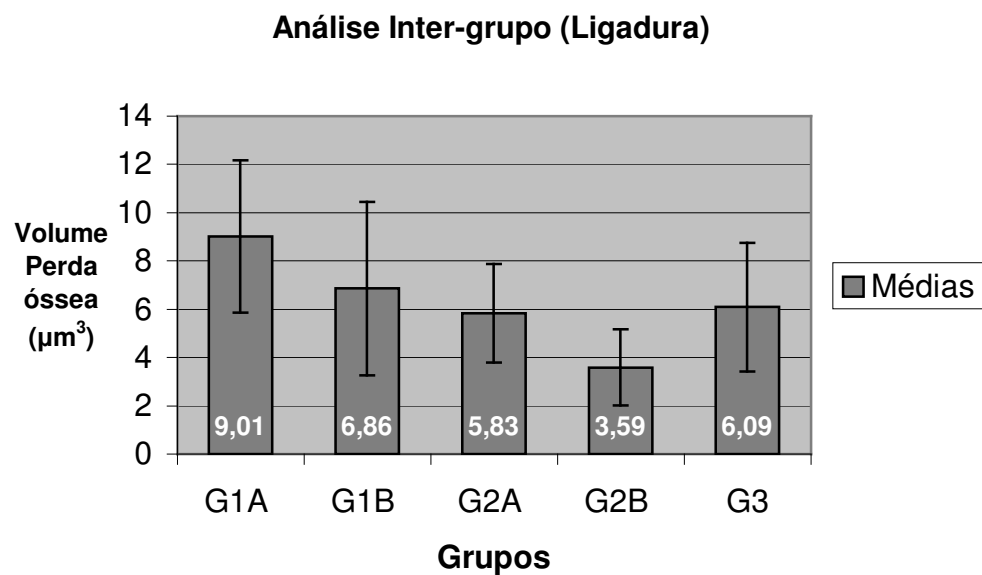


Figura 9 – Média e desvio padrão do volume do ligamento periodontal (μm^3) nos dentes sem ligadura, de acordo com cada grupo.





a



b

Figura 11- Fotomicrografias do **Grupo 1A** (15 dias), ilustrando a região inter-radicular nos dentes sem (a) e com (b) ligadura. Observa-se em (a) a ausência de reabsorção óssea. A seta indica a região de perda óssea mensurada sob a furca, onde o tecido conjuntivo está presente. Aumento Original X 12,5.



a



b

Figura 12- Fotomicrografias do **Grupo 1B** (45 dias), ilustrando a região inter-radicular nos dentes sem (a) e com (b) ligadura. A seta indica a região de perda óssea mensurada sob a furca, onde o tecido conjuntivo está presente. Aumento Original X 12,5.



a



b

Figura 13- Fotomicrografias do **Grupo 2A** (15 dias), ilustrando a região inter-radicular nos dentes sem (a) e com (b) ligadura. Observa-se em (a) a ausência de reabsorção óssea. A seta indica a região de perda óssea mensurada sob a furca.

Aumento Original X 12,5.



a



b

Figura 14- Fotomicrografias do **Grupo 2B** (45 dias), ilustrando a região inter-radicular nos dentes sem (a) e com (b) ligadura. A seta indica a região de perda óssea mensurada sob a furca. Aumento Original X 12,5.



a



b

Figura 15- Fotomicrografias do **Grupo 3**, ilustrando a região inter-radicular nos dentes sem (a) e com (b) ligadura. A seta indica a perda óssea na região sob a furca. Aumento Original X 12,5.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

6 DISCUSSÃO

O modelo experimental de indução da periodontite em ratos, por meio da colocação de ligaduras de algodão na região cervical do primeiro molar inferior tem sido amplamente utilizado e relatado na literatura (JOHNSON, 1975; SALLAY *et al.*, 1982). A presença da ligadura no presente estudo foi eficiente em provocar inflamação gengival e perda óssea alveolar nos períodos de 15 e 45 dias, comparada aos dentes contralaterais que não receberam ligadura ($P < 0,05$).

A presença da ligadura promove uma rápida colonização bacteriana associada a uma posição mais apical em relação à margem gengival, a qual produz uma injúria traumática, alterando a patogenicidade do modelo experimental, o que provoca uma rápida perda óssea alveolar associada a uma resposta inflamatória aguda (NYMAN *et al.*, 1979, WEAKS-DYBVIG *et al.*, 1982).

Para NYMAN *et al.*, em 1979; WEAKS-DYBVIG *et al.*, em 1982, a presença da injúria provocada pela ligadura e as bactérias promovem uma liberação de grandes quantidades de mediadores inflamatórios pelas células inflamatórias presentes nos tecidos, como as prostaglandinas, as quais estavam diretamente relacionadas com a perda óssea alveolar observada em uma semana de indução da doença periodontal experimental. A presença do biofilme dental e seus subprodutos induzem a produção de fatores locais, pelas células imunes no tecido conjuntivo e células ósseas, também denominados fatores osteotrópicos, como IL-1 α e β , IL-6, PGE₂ e fator de necrose tumoral α (FNT α), entre outros mediadores inflamatórios os quais modificam o equilíbrio da remodelação óssea tanto *in vivo* como *in vitro*, aumentando a formação e ativação osteoclástica bem como inibindo a função osteoblástica, o que conseqüentemente leva à destruição do tecido conjuntivo e reabsorção óssea (SCHWARTZ *et al.*, 1997).

No presente estudo, o grupo controle, aos 45 dias do experimento (G1B), mostrou uma tendência numérica à diminuição ou estabilização do padrão de destruição óssea, porém não foi estatisticamente significativa ($P > 0,05$), quando comparado ao período de 15 dias (G1A), sugerindo que a perda óssea em modelo de ligadura pode ser parcialmente revertida com o decorrer do tempo, como observado também por WEAKS-DYBVIG *et al.*, em 1982. Para estes autores,

duas semanas após a colocação de ligaduras em macacos, observaram que ocorria neo-osteogênese, bem como uma diminuição no número de osteoclastos na superfície óssea, suportando a hipótese de que os processos de reabsorção e formação óssea estão associados. Segundo KUJUBU & HERSCHMAN, em 1992, a própria liberação de glicocorticóides endógenos pode exercer algum efeito regulador sobre a produção local de prostaglandinas na inflamação, diminuindo a sua síntese.

Os efeitos da terapia com antiinflamatórios não esteroidais sobre a inibição da perda óssea alveolar na periodontite têm sido extensivamente investigados tanto em modelos experimentais em animais (NYMAN *et al.*, 1979; WEAKS-DYBVIK *et al.*, 1982; LASFARGUES & SAFFAR, 1983; JEFFCOAT *et al.*, 1986; WILLIAMS *et al.*, 1988, 1991; OFFENBACHER *et al.*, 1992) como ocorrendo naturalmente em humanos (WILLIAMS *et al.*, 1989; RUTTIMANN *et al.*, 1991; JEFFCOAT *et al.*, 1991, 1995). Entretanto, a utilização de inibidores seletivos de COX-2 tem recebido atenção limitada (BEZERRA *et al.*, 2000). Dessa forma, o presente estudo se propôs a utilização destas drogas em razão da enzima COX-2 apresentar-se em níveis aumentados nos processos inflamatórios (MORTON & DONGARI-BAGTZOGLOU, 2001) e do seu possível papel nos processos fisiológicos do hospedeiro (MORHAM *et al.*, 1995), associado ainda à presença das prostaglandinas exercendo influência na patogênese da doença periodontal (GOODSON *et al.*, 1974; OFFENBACHER *et al.*, 1986, 1993) sendo consideradas potentes estimuladoras da reabsorção óssea (GOLDHABER *et al.*, 1973; GOODSON *et al.*, 1974; GOMES *et al.*, 1976; RAISZ *et al.*, 1977).

A dosagem de 3mg/kg utilizada diariamente no presente estudo baseou-se no estudo de BEZERRA *et al.*, em 2000, o qual mostrou que tal dosagem era suficiente para prevenir a perda óssea e diminuir o processo inflamatório sem que provoque danos ao trato gastrointestinal.

A redução estatisticamente significativa da reabsorção óssea nos períodos de 15 (G2A) e 45 dias (G2B) ($P < 0,05$), pôde demonstrar que o meloxicam, por si só, foi efetivo na diminuição da perda óssea inter-radicular,

estando de acordo com a maioria dos estudos descritos na literatura utilizando tanto antiinflamatórios não esteroidais convencionais como os inibidores específicos e seletivos para COX-2 (BEZERRA *et al.*, 2000; HOLZHAUSEN, 2002). BEZERRA *et al.*, em 2000; HOLZHAUSEN, em 2002, observaram que ratos com periodontite induzida e tratada com meloxicam e celecoxib, respectivamente, apresentaram uma menor reabsorção óssea em relação aos grupos que não receberam as drogas. Entretanto, para este último estudo (HOLZHAUSEN, 2002), os grupos teste e controle não apresentaram diferença significativa na média da perda óssea no final do experimento (30 dias), resultado este que não foi encontrado no presente estudo, utilizando o meloxicam, o qual mostrou uma significativa diferença quanto à diminuição da perda óssea aos 45 dias, quando comparado ao grupo não tratado.

Essa diminuição da reabsorção óssea, mas não sua inibição total, pode ser explicada em razão de uma inibição parcial da síntese das prostaglandinas ou então pela ativação de outros mediadores que podem estar associados com a resposta inflamatória, como outros metabólitos do ácido araquidônico (TXB₂, LTA₄, 5-HETE) e citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6), como observado em outros estudos (OFFENBACHER *et al.*, 1986, 1987; WILLIAMS *et al.*, 1988; SMITH *et al.*, 1993; HOLZHAUSEN, 2002), os quais também poderiam apresentar atividade de reabsorção óssea (NYMAN *et al.*, 1979; BEZERRA *et al.*, 2000;).

Alguns estudos têm demonstrado que após a terapia antiinflamatória não esteroidal, com drogas convencionais, no tratamento da doença periodontal induzida (VOGEL *et al.*, em 1986) ou ocorrendo naturalmente em animais (LI *et al.*, 1996) e em humanos (RUTTIMANN *et al.*, 1991; JEFFCOAT *et al.*, 1991; HEASMAN *et al.*, em 1993b; JEFFCOAT *et al.*, em 1995), observou-se ganho ósseo após a sua utilização. Tais achados puderam ser observados no presente estudo, quando comparados os períodos de 15 (G2A) e 45 dias (G2B) de administração da droga, em que este último apresentou um volume de tecido ósseo estatisticamente menor do que o primeiro grupo ($P < 0,05$), sugerindo um possível ganho ósseo, na ausência de qualquer tratamento adicional.

Ao avaliar o efeito remanescente do meloxicam não se observou diferença estatística significativa em relação ao grupo que não recebeu a droga, corroborando outros dados da literatura que também avaliaram o efeito remanescente de antiinflamatórios não esteroidais convencionais sobre a perda óssea na progressão da doença periodontal (JEFFCOAT *et al.*, 1986; WILLIAMS *et al.*, 1991; ABRAMSON *et al.*, 1992;), os quais demonstraram não haver manutenção deste efeito pós-tratamento, sugerindo que utilização das drogas de forma contínua representaria a maneira eficaz de se promover uma diminuição da progressão da doença periodontal. WEAKS-DYBVIG *et al.*, em 1982, afirmaram que o efeito inibidor do antiinflamatório não esteroidal (indometacina) é apenas durante o período do experimento, portanto, não foi surpresa que os animais que receberam a droga apresentassem uma redução da perda óssea alveolar. No estudo de NUKI *et al.*, em 1981, os autores sugeriram que existia uma relação entre as endotoxinas bacterianas e as PGE₂ remanescentes após a suspensão da indometacina na doença periodontal induzida em cães, o que poderia explicar a atividade remanescente da reabsorção óssea. Fato que já é estabelecido na literatura quanto ao papel dos produtos bacterianos na ativação das prostaglandinas e estimulação da reabsorção óssea na presença das bactérias, bem como da liberação de citocinas inflamatórias (GIERSE *et al.*, 1995; HART & KORNMAN, 1997; MORTON & DONGARI-BAGTZOGLOU, 2001).

Comparando os grupos que receberam o meloxicam entre si, observou-se que, aos 45 dias (G2B), o padrão de reabsorção óssea foi estatisticamente menor ($P < 0,05$) em relação ao período de 15 dias (G2A), demonstrando que houve uma efetiva inibição da perda óssea. Os tecidos periodontais respondem à colocação da ligadura por meio de uma inflamação aguda associada a uma incipiente reabsorção óssea devido à liberação de prostaglandinas e outros mediadores da inflamação. Entretanto, uma fase crônica se instala em razão dos fenômenos inflamatórios que vão se estabelecendo nos tecidos periodontais, principalmente devido à presença do biofilme bacteriano (NYMAN *et al.*, 1979). Desta forma, a utilização do meloxicam de forma preventiva, ou seja, ao mesmo

tempo em que a indução da doença, como realizada no presente estudo, foi efetiva na diminuição da reabsorção óssea por bloquear preferencialmente a enzima COX-2, inibindo assim a síntese de prostaglandinas. No entanto, ao ser suspensa a administração do meloxicam, observou-se que o grupo que recebeu o meloxicam apenas por 15 dias e depois a recebeu solução salina, apresentou uma discreta perda óssea adicional até o final do experimento (45 dias).

O'BRIEN *et al.*, em 2002, demonstraram que a utilização de um antiinflamatório não esteroide, indometacina, em cultura de células osteoclásticas de calvária de ratos, provocou uma inibição da produção de PGE₂ e com isso, aumentava a expressão do RNAm para osteoprotegerin (OPG), um regulador fisiológico importante na diferenciação e função dos osteoclastos, o qual se liga com alta afinidade ao seu receptor RANKL, nas células osteoblásticas, neutralizando a ação estimulatória sobre os osteoclastos, por provocar a sua separação da superfície óssea, promovendo sua adesão ao periósteo. Aparentemente, tal mecanismo poderia explicar a diminuição na reabsorção óssea ocorrida nos grupos tratados com o antiinflamatório não esteroide, no presente estudo (G2A e G2B), quando comparado aos grupos que não receberam a droga (G1A e G1B). No entanto, quando a administração foi suspensa aos 15 dias (G3), especula-se que tenha ocorrido um aumento da produção de PGE₂, estimulada pela presença do biofilme bacteriano e citocinas inflamatórias, podendo ter havido uma reversão da adesão dos osteoclastos novamente sobre a superfície óssea e estimulado a reabsorção óssea. Como relatado em vários estudos, o aumento do número de osteoclastos está associado com o aumento da reabsorção óssea e a quantidade de PGE₂ local (NYMAN *et al.*, 1979; WEAKS-DYBVIK *et al.*, 1982; BEZERRA *et al.*, 2000). Em vista da complexidade dos eventos celulares e moleculares e da regulação multifuncional que ocorrem no metabolismo ósseo da doença periodontal, estudos adicionais são necessários procurando avaliar o real papel dos mediadores inflamatórios na regulação do metabolismo ósseo associado à utilização de inibidores das prostaglandinas na doença periodontal,

visando fornecer subsídios para a sua utilização no tratamento da doença periodontal.

Os antiinflamatórios não esteroidais não são utilizados comumente no tratamento e prevenção da periodontite, particularmente em razão dos efeitos colaterais dessas drogas, quando administrados sistemicamente e por longos períodos, os quais poderiam ser mais severos do que a própria doença a ser tratada (SEYMOUR & HEASMAN, 1988). Entretanto, reconhecida a habilidade em alterar a progressão da doença periodontal por bloquear determinadas respostas do hospedeiro envolvidas no processo destrutivo (WILLIAMS *et al.*, 1989) e com a intenção de minimizar os efeitos colaterais promovidos pelos antiinflamatórios não esteroidais, a utilização de inibidores seletivos de COX-2 ou a utilização de drogas na forma de aplicação local como em dentifrícios, géis, soluções para bochecho, dispositivos de liberação lenta e aplicação tópica, poderiam ser efetivos ou apresentar benefícios como adjunto à terapia mecânica, na prevenção ou diminuição da perda óssea e perda de inserção decorrente da doença (VOGEL *et al.*, 1986; WILLIAMS *et al.*, 1988; YEWEY *et al.*, 1991; OFFENBACHER *et al.*, 1992; HEASMAN *et al.*, 1993b; JEFFCOAT *et al.*, 1995; LI *et al.*, 1996). Estudos adicionais também são necessários para se avaliar a utilização da droga de forma cíclica, ou seja, por períodos alternados ou durante a fase ativa do tratamento periodontal. Nos casos de periodontite agressiva ou naqueles casos que não respondem adequadamente à terapia mecânica isolada, a utilização de drogas antiinflamatórias não esteroidais poderiam ser interessantes como auxiliar no tratamento mecânico.

Apesar dos resultados do presente estudo demonstrarem um efeito inibidor sobre a reabsorção óssea com a utilização de antiinflamatórios não esteroidais seletivos da COX-2 em doença periodontal induzida em ratos, a sua utilização em humanos ainda deve ser considerada com cautela como forma de tratamento periodontal, pois existe a necessidade da realização de estudos clínicos em humanos para comprovar a sua eficiência em prevenir a perda óssea periodontal. Entretanto, os inibidores de COX-2 podem apresentar vantagens

terapêuticas em relação aos antiinflamatórios convencionais, por diminuir os efeitos colaterais, melhorando a cooperação do paciente e ainda prover uma utilização mais prolongada da droga no tratamento da doença periodontal. (MORTON & DONGARI-BAGTZOGLOU, 2001).

Diante dos resultados, o presente estudo representa uma contribuição na área da modulação da resposta do hospedeiro, demonstrando a participação de inibidores seletivos de COX-2 na progressão da periodontite experimental em modelos animais. E o estudo da farmacodinâmica de drogas que afetam essa taxa de progressão da doença periodontal pode representar um novo avanço para a terapia periodontal no futuro. Desta forma, pesquisas adicionais utilizando inibidores seletivos de COX-2, como possíveis candidatos adjuntos ao tratamento da doença periodontal inflamatória, necessitam ser realizados para que possam ser considerados o início de uma nova linha de modalidades terapêuticas.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

7 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, pôde-se concluir que a administração diária do meloxicam, na dosagem de 3mg/kg, por 15 e 45 dias, utilizado de forma contínua, foi capaz de diminuir a perda óssea na região inter-radicular na periodontite induzida em ratos, no entanto, após a suspensão do tratamento não foi observado efeito remanescente.

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

* De acordo com a norma utilizada na FOP/Unicamp, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

1. Abramson MM, Wolff LF, Offenbacher S, Aeppli DM, Hardie ND, Friedman HM. Flurbiprofen effect on gingival crevicular fluid prostaglandin and thromboxane levels in humans. *J Periodontol Res.* 1992;27:539-543.
2. Anderson GD, Hauser SD, Mcgarity KL, Bremer ME, Isakson PC, Gregory SA. Selective Inhibition of Cyclooxygenase (COX)-2 reserves inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J Clin Invest.* 1996 Jun;97(11):2672-2679.
3. Andrade ED. *Terapêutica Medicamentosa em Odontologia*. São Paulo/SP, Editora Artes Médicas, Divisão Odontológica, 2000, p.45-64.
4. Bezerra MM, De Lima V, Alencar VBM, Vieira IB, Brito GAC, Ribeiro RA *et al*. Selective Cyclooxygenase–2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2000;71(6):1009-1014.
5. Collins T. Inflamação Aguda e Crônica. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins, Patologia Estrutural e Funcional*. 6^a Ed. Rio de Janeiro/RJ, Editora Guanabara Koogan, 2000: 44-78.
6. Dewhirst FE, Moss DE, Offenbacher S, Goodson JM. Levels of prostaglandin E2, thromboxane, and prostacyclin in periodontal tissues. *J Periodontal Res.* 1983;18:156-163.
7. Doku HC, Shklar G, Bugbee B. The effect of epsilon aminocaproic acid on the healing of extraction wounds in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1966 Nov; 22(5): 569-77.
8. El Attar TMA, Lin HS. Relative conversión of arachidonic acid through lipoxigenase and cyclooxygenase pathways by homogenates of diseased periodontal tissues. *J Oral Pathol.* 1983;12:7-10.
9. Emery P. Clinical implications of selective cyclooxygenase-2 inhibition. *Scand J Rheumatol.* 1996;25(Suppl 102):23-28.
10. Engelhardt G, Homma D, Schlegel K, Utzman R, Schnitzler C. Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favorable gastrointestinal tolerance. *Inflamm Res.* 1995;44:423-433.

11. Gabriel SE, Bombardier C. NSAID induced ulcers. An emerging epidemic? *J Rheumatol.* 1990;17:1-2.
12. Gemmel E, Marshall RJ, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology 2000* 1997;14:112-143.
13. Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol.* 1992 Apr;63(4 Suppl):338-55.
14. Gierse JK, Hauser SD, Creely DP, Koboldt C, Rangwala SH, Isakson PC *et al.* Expression and selective inhibition of the constitutive and inducible forms of human cyclo-oxygenase. *Biochem J.* 1995;Jan(15);305(Pt 2):479-84.
15. Goldhaber P, Rabadjija L, Beyer WR, Kornhauser A. Bone resorption in tissue culture and its relevance to periodontal disease. *J Am Dent Ass.* 1973;87(10)(Special Issue):1027-1033.
16. Gomes BC, Hausmann E, Weinfeld N, De Luca C. Prostaglandins: bone resorption stimulating factors released from monkey gingival. *Calcif. Tiss. Res.* 1976;19:285-293.
17. Goodson JM, Dewhirst FE, Brunetti A. Prostaglandin E2 levels and human periodontal disease. *Prostaglandins* 1974;6(1):81-85.
18. Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microscopy* 1987;147:229-63.
19. Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology reconsidered. *J Microscopy* 1999;193:119-211.
20. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000* 1997;14:202-215.
21. Heasman PA, Seymour RA. An association between long-term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy and the severity of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1990;17:654-658.

22. Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1B, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumor necrosis factor α in experimental gingivitis in human. *J Periodontol Res.* 1993a;28:241-247.
23. Heasman PA, Benn DK, Kelly PJ, Seymour RA, Aitken D. The use of topical flurbiprofen as an adjunct to non-surgical management of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1993b;20:457-464.
24. Heasman PA, Offenbacher S, Collins JG, Edwards G, Seymour RA. Flurbiprofen in the prevention and treatment of experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1993c;20:732-738.
25. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor-KB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *Rev J Molec Med.* 2001;79:243-253.
26. Holzhausen M. *Efeito do Celecoxib sobre o desenvolvimento de doença periodontal induzida em ratos* [Dissertação de Mestrado]. Araraquara/SP: UNESP, 2002.
27. Horowitz MC, Xi Y, Wilson K, Kacena MA. Control of osteoclastogenesis and bone resorption by members of TNF family of receptors and ligands. *Cytokine and Growth Factors Rev.* 2001;12:9-18.
28. Itonaga I, Sabokbar A, Neale SD, Athanasou NA. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) and prostaglandin E2 act directly on circulating human osteoclast precursors. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Oct 22;264(2):590-595.
29. Jeffcoat MK, Williams WJ, Wechter, HG, Johnson HG, Kaplan JS, Gandrup JS *et al.* Flurbiprofen treatment of periodontal disease in beagles. *J Periodontal Res.* 1986;21:624-633.
30. Jeffcoat MK, Page R, Reddy M, Wannawisute A, Waite P, Palcanis K *et al.* Use of digital radiography to demonstrate the potential of naproxen as an adjunct in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol Res.* 1991;26:415-421.

31. Jeffcoat MK, Reddy MS, Haigh S. A comparison of topical ketorolac, systemic flurbiprofen and placebo for the inhibition of bone loss in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1995;66(5):329-338.
32. Johnson IH. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J Periodont Res.* 1975;10:332-45.
33. Kinane DF, Lindhe J. *Patogênese da Periodontite*. In: Lindhe J. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral. 3ª Ed. Rio de Janeiro/RJ, Editora Guanabara Koogan, 1999;p.127-152.
34. Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol.* 1991;62:59-73.
35. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. In: Page RC, Kornman KS, Pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000* 1997;14:33-53.
36. Kuehl FA, Egan RW. Prostaglandin, Arachidonic Acid and Inflammation. *Science* 1980;210(28):978-984.
37. Kujubu DA, Herschman HR. Dexamethasone inhibits mitogen induction of the TIS 10 prostaglandin synthase/cyclooxygenase gene. *J Biol Chem.* 1992;267:7991-7994.
38. Lasfargues JJ, Saffar JL. Effect of indomethacin on bone destruction during experimental periodontal disease in the hamster. *J Periodontal Res.* 1983;18:110-117.
39. Lara PM. Os eicosanóides nos processos inflamatórios. In: *Fascículo de atualização farmacológica da inflamação*, Vol. II. Bios Comunicação e Editora Ltda, 1998.
40. Li KL, Vogel R, Jeffcoat MK, Alfano MC, Smith MA, Collins JG *et al.* The effect of ketoprofen creams on periodontal disease in rhesus monkeys. *J Periodontol Res.* 1996;31:525-532.
41. Marnett L, Kalgutkar AM. Cyclooxygenase 2 inhibitors: Discovery and the future. *TIPS.* 1999;20:465-469.

42. Miyasaki KT. Função alterada do leucócito e doença periodontal. In: Carranza FA, Newman MG. *Periodontia Clínica*. 8ª Ed., Rio de Janeiro/RJ, Editora Guanabara Koogan, 1997,136-154.
43. Morham SG, Langenbach R, Loftin CD, Tiano HF, Vouloumanos N, Jennette JC *et al*. Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. *Cell* 1995 Nov 3;83(3):473-82.
44. Morton RS, Dongari-Bagtzoglou AI. Cyclooxygenase-2 is upregulated in inflamed gingival tissues. *J Periodontol*. 2001;72:461-469.
45. Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K *et al*. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;253:395–400.
46. Noble S, Balfour JA. Meloxicam: new drug profile. *Drugs* 1996: 51(3): 424-430.
47. Nuki K, Soskolne WA, Raisz RG, Kornman KS, Alander C. Bone resorbing activity of gingival from beagle dogs following metronidazole and indomethacin therapy. *J Periodontol Res*. 1981;16:205-212.
48. Nyman S, Schroeder HE, Lindhe J. Suppression of Inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs. *J Periodontol*. 1979;50(9):450-461.
49. O'Brien EA, Williams JH, Marshall MJ. Osteoprotegerin is produced when prostaglandin synthesis is inhibited causing osteoclast detach from the surface of mouse parietal bone and attach to the endocranial membrane. *Bone* 2001;28(2):208-214.
50. Offenbacher S; Farr DH, Goodson JM. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 1981;8:359-367.
51. Offenbacher S, Odle BM, Gray RC, Van Dyke TE. Crevicular fluid prostaglandin E levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. *J Periodontol Res*. 1984;19:1-13.

52. Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE. The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res.* 1986;21:101-112.
53. Offenbacher S, Braswell LD, Loss AS, Johnson HG, Hall CM, McClure H *et al.* Effects of flurbiprofen on the progression of periodontitis in *Macaca mulatta*. *J Periodontol Res.* 1987;22:473-481.
54. Offenbacher S, Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Odle BM, Smith MA *et al.* Effects of NSAIDs on beagle crevicular cyclooxygenase metabolites and periodontal bone loss. *J Periodontal Res.* 1992;27:207-213.
55. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE₂ secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol.* 1993;64:432-444.
56. Page RC, Schroeder HE. *Periodontitis in man and other animals. A comparative review.* Basel: Karger, 1982:71-106.
57. Page R, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000* 1997;14:216-248.
58. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000* 1997 Jun;14:9-248.
59. Raisz LG, Dietrich JW, Simmons HA. Effect of prostaglandin endoperoxides and metabolites on bone resorption *in vitro*. *Nature* 1977;267(9):532-534.
60. Ruttiman V, de Valk S, Engelke W, Wright W, Cain J. Effect of flurbiprofen in alveolar bone loss assessed by subtraction radiography. *J Dent Res.* 1991;70(Spec. Issue):468(Abstr. 1616).
61. Sallay K, Sanavi F, Ring I, Pham P, Behling UH, Nowotny A. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *J Periodontol Res.* 1982;17:363-274.

62. Salvi GE, Williams RC, Offenbacher S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as adjuncts in the management of periodontal diseases and peri-implantitis. *Curr Opin Periodontol.* 1997;4:51-58.
63. Schwartz Z, Goultschin J, Dean DD, Boyan B. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontology 2000* 1997; 14: 158-172.
64. Seymour RA, Heasman PA. Drugs and the periodontium. *J Clin Periodontol.* 1988;15:1-16.
65. Smith MA, Braswell LD, Collins JG, Boyd DI, Jeffcoat Mk, Reddy M *et al.* Changes in inflammatory mediators in experimental periodontitis in the rhesus monkey. *Infection e Immunity* 1993;61:1453-1459.
66. Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1984;11(1):21-32.
67. Suda T, Takahashi E, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligands families. *Endocrine Rev.* 1999 Jun;20(3):345-57.
68. Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley JM *et al.* Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology* 1988 Nov;123(5):2600-2602.
69. Takata T, Nikai H, Ijuhin N, Ito H. Penetration and uptake of colloidal gold-labeled concanavalin A in the junctional epithelium of the rat. *J Periodontol.* 1988 Dec;59(12):823-9.
70. Taubman MA, Yoshie H, Ebersole JL, Smith DJ, Olson CL. Host response in experimental periodontal diseases. *J Dent Res.* 1984;63:455.
71. Teng Y-TA, Nguyen H, Gao X, Kong Y-Y, Gorczynski RM, Singh B *et al.* Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *J Clin Invest.* 2000 Sep;v.0:10763-67.

72. Udagawa N, Takahashi N, Yasuda H, Mizuno A, Itoh K, Ueno Y *et al.* Osteoprotegerin produced by osteoblasts is an important regulator in osteoclast development and function. *Endocrinology* 2000;141(9):3478-3484.
73. Vane JR, Botting RM. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res.* 1995;44:1-10.
74. Vogel RI, Schneider L, Goteiner D. The effects of a topically-active non-steroidal anti-inflammatory drug on ligature-induced periodontal disease in the squirrel monkey. *J Clin Periodontol.* 1986;13:139–144.
75. Waite IM, Saxton CA, Young A, Wagg BJ, Corbett M. The periodontal status of subjects receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Periodontol Res.* 1981;16:100-108.
76. Weeks-Dybvig M, Sanavi F, Zander H, Rifkin BR. The effect of indomethacin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol Res.* 1982;17:90-100.
77. Williams RC, Jeffcoat MK, Wechter WJ, Johnson HG, Kaplan ML, Goldhaber P. Non-steroidal anti-inflammatory drug treatment of periodontitis in beagles. *J Periodontol Res.* 1984;19:633-637.
78. Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Hall CM, Johnson HG, Wechter WJ *et al.* Indomethacin or flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles: Comparison of effect on bone loss. *J Periodontol Res.* 1987;22:403-407.
79. Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Reddy MS, Johnson HG, Hall CM *et al.* Ibuprofen: an inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. *J Periodontol Res.* 1988; 23: 225-229;
80. Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Rolla A, Stubbs D, Teoh KW *et al.* Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. *J Periodontol.* 1989;60(9):485-490.
81. Williams RC, Jeffcoat MK, Howell TH, Paquette D, Rolla A, Reddy M *et al.* Three year trial of flurbiprofen treatment in humans: post-treatment period. *J Dent Res.* 1991;70(Spec. Issue):468(abstr.1617).

82. Yewey G, Tipton A, Dunn R, Menardi EM, Mcevoy RM, Jensen JA *et al.*
Evaluation of a biodegradable subgingival delivery system for flurbiprofen. *J Dent Res.* 1991;70(Spec. Issue):324(abstr.468).

***INFLUÊNCIA DO MELOXICAM SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM
PERIODONTITE EXPERIMENTAL. AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA EM RATOS.***

9 ANEXOS

Tabela 1: Volume da perda óssea inter-radicular μm^3 (micrometros cúbicos) nos dentes controle (sem ligadura) e com ligadura, de acordo com cada grupo. Valores individuais para cada dente.

Grupos	1A (L)	1A (s)	1B (L)	1B (s)	2A (L)	2A (s)	2B (L)	2B (s)	3 (L)	3 (s)
Animais										
1		2,24	9,13	0,86	9,69	1,62	0,79	2,12	6,72	2,51
2	6,68	2,60	8,26	1,85	6,38	2,04	3,84		7,89	1,30
3		0,42	6,12	1,63	3,71	1,50	1,85	2,34	6,03	1,71
4	6,90	3,31	13,28	2,10	4,10		5,36	1,75	8,42	4,38
5	10,40	1,22		2,25	5,30	2,26	5,81	0,57	7,04	2,94
6			9,37	4,54	7,23	2,58	2,92	1,73	2,87	2,48
7	12,79	2,88		1,03	8,78	4,16	3,46	2,14	10,96	1,34
8	11,74	1,85	9,83	2,88	3,55		2,90	1,57	5,29	2,34
9		2,84	6,90	2,64	2,21	1,31	2,55	1,35	4,97	2,69
10	5,57	1,77	2,30	1,95	6,43	2,00	4,12	1,07	8,84	0,79
11	11,53	1,94	4,29	2,48	4,45	3,42	3,72	1,43	3,87	2,69
12		4,11	0,63	2,00	6,21	2,33	6,91	3,63	2,81	2,75
13	10,09	3,49	10,21	2,05	6,61	1,64	2,38	2,26	1,64	3,17
14	11,13	3,05	3,66		5,23	2,29	3,10	1,41	7,87	2,57
15	3,30	0,78	5,15	1,03	7,57	2,87	4,19			1,90
Média	9,01	2,32	6,86	2,09	5,83	2,31	3,59	1,80	6,09	2,37
DP	3,16	1,06	3,59	0,93	2,04	0,81	1,57	0,75	2,66	0,88

Tabela 2: Média e desvio padrão do volume da perda óssea inter-radicular (μm^3) nos dentes controle (sem ligadura) e com ligadura, de acordo com os grupos.

	Grupo 1A	Grupo 1B	Grupo 2A	Grupo 2B
Controle	2,32 ± 1,06 aA	2,09 ± 0,93 aA	2,31 ± 0,81 aA	1,80 ± 0,75 aA
Ligadura	9,01 ± 3,16 bB	6,86 ± 3,59 bAB	5,83 ± 2,04 bC	3,59 ± 1,57 bD

Letras maiúsculas devem ser consideradas em linhas segundo o teste estatístico Kruskal-Wallis e letras minúsculas em colunas segundo o teste Mann-Whitney.

Tabela 3: Média e desvio padrão do volume da perda óssea inter-radicular (μm^3) nos dentes controle (sem ligadura) e com ligadura, em relação ao efeito remanescente.

	Grupo 1B	Grupo 2B	Grupo 3
Controle	2,09 ± 0,93 aA	1,80 ± 0,75 aA	2,37 ± 0,88 aA
Ligadura	6,86 ± 3,59 bB	3,59 ± 1,57 bC	6,09 ± 2,66 bB

Letras maiúsculas devem ser consideradas em linhas segundo o teste estatístico Kruskal-Wallis e letras minúsculas em colunas segundo o teste Mann-Whitney.

Nome do arquivo: TeseBrunoG
Pasta: E:
Modelo: C:\Documents and Settings\Rapetti\Application
Data\Microsoft\Modelos\Normal.dot
Título: Revista de Literatura
Assunto:
Autor: Bruno
Palavras-chave:
Comentários:
Data de criação: 24/04/2003 17:25
Número de alterações:3
Última gravação: 24/04/2003 17:26
Gravado por: Fop/Unicamp
Tempo total de edição: 1 Minuto
Última impressão: 29/04/2003 10:52
Como a última impressão
Número de páginas: 96
Número de palavras: 18.357 (aprox.)
Número de caracteres: 104.640 (aprox.)