

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
João Batista Fernandes

**INFLUÊNCIA DO USO DE DOSE SUBANTIMICROBIANA DE
DOXICICLINA OU IBUPROFENO NA PERDA ÓSSEA
ALVEOLAR EM PERIODONTITE INDUZIDA EM RATAS**

Taubaté – SP

2006

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
JOÃO BATISTA FERNANDES**

**INFLUÊNCIA DO USO DE DOSE SUBANTIMICROBIANA DE
DOXICICLINA OU IBUPROFENO NA PERDA ÓSSEA
ALVEOLAR EM PERIODONTITE INDUZIDA EM RATAS**

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
graduação do Departamento de Odontologia
da Universidade de Taubaté.

Área de concentração: Periodontia
Orientadora: Profa. Dra. Lucilene Hernandes
Ricardo

Taubaté – SP

2006

JOÃO BATISTA FERNANDES

**INFLUÊNCIA O USO DE DOSE SUBANTIMICROBIANA DE DOXICICLINA E
IBUPROFENO NA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR EM PERIODONTIE INDUZIDA EM
RATAS**

Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre pelo Programa de Pós-graduação do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de concentração: Periodontia

Data: _____

Resultado: _____

COMISSÃO JULGADORA

Prof. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Prof. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Dedico este trabalho à minha esposa Ana Shirley e às minhas filhas Hadassa Cristine, Hayanne Gabrielle e Hanna Stephanie pelo amor, compreensão e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade de Taubaté, UNITAU – SP.

Ao Prof. Dr. Nivaldo Zollner, Magnífico reitor da UNITAU.

Ao Prof. Dr. Antônio Olavo Cardoso Jorge, Coordenador do Curso de Pós-Graduação da UNITAU.

Ao Prof. Dr. José Roberto Cortelli, Coordenador do curso de Pós-graduação (Nível Mestrado), área de concentração Periodontia da UNITAU.

À Profa. Dra. Lucilene Hernandes Ricardo, pelo grande empenho, paciência e dedicação na orientação para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Celso Silva Queiroz por compartilhar seus conhecimentos e incentivo.

À Profa. Marina Buselli pela correção das normas.

Aos professores do mestrado pela colaboração, respeito e coleguismo.

Ao Prof. Dr. Luiz César de Moraes, responsável pela Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia da UNESP – São José dos Campos-SP.

À Jefferson Luis Oshiro Tanaka, aluno do programa de doutorado da disciplina de Biopatologia Bucal, Área de Concentração Radiologia Odontológica da Faculdade de Odontologia da UNESP – São José dos Campos – SP., pelo auxílio na obtenção das imagens radiográficas.

À Fernanda Lenzi de Lemos e Caroline de Carlo G Santos, alunas de graduação da UNITAU – Taubaté – SP., pela colaboração na etapa laboratorial do biotério para que este trabalho pudesse ser realizado.

O ideal de vida não é a esperança de chegar a ser perfeito, é a vontade de ser cada vez melhor!

Nair de Araújo Casamayor

RESUMO

O avanço no conhecimento sobre a patogenia da doença periodontal tem motivado estudos sobre a modulação dos eventos histopatológicos através de moduladores sintéticos. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do tratamento com doses subantimicrobianas de doxiciclina ou com ibuprofeno, sobre a perda óssea decorrente da periodontite experimental. Foram utilizadas 20 ratas (Wistar) divididas em quatro grupos (n=5): GC, controle; GL, com ligadura; GD com ligadura e tratado com 0,14 mg de doxiciclina; GI com ligadura e tratados com 0,42 mg de ibuprofeno. Após o período de 28 dias os animais foram sacrificados e, as hemimandíbulas esquerdas dissecadas e radiografadas em Raios-X digital e avaliadas quanto ao suporte ósseo periodontal (SOP), em seguida fotografadas em lupa estereoscópica para avaliação da perda óssea alveolar. As imagens foram avaliadas no programa *Image Tool for Windows Versão 2.0*(UTHSCSA) e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA, Tukey) ao nível de 5%. Os valores médios de SOP (%) mostraram que GL (39,13±11,55) foi estatisticamente menor que GC (58,09 ± 3,18) ($p=0,001$). GD (48,65 ± 4,98) e GI (48,54 ± 4,94) foram equivalentes entre si e à GC e GL. Quanto à perda óssea alveolar (mm), observou-se que GC (0,75 ± 0,06) foi estatisticamente menor que GD (1,04 ± 0,10) e GL (1,05 ± 0,27) e equivalente à GI (0,89 ± 0,06). Baseados nestes resultados, podemos concluir que a utilização de doxiciclina ou ibuprofeno não reduziu a perda óssea alveolar decorrente da periodontite induzida em ratas.

Palavras-chave: Dose subantimicrobiana de doxiciclina. Ibuprofeno. Periodontites.

ABSTRACT

The advance of the knowledge about the histopathologic events associated to periodontal disease has motivated the development of studies about modulation of these events by the use of anti-inflammatory drugs. The aim of this study was to evaluate the influence of the treatment with low dose of doxycycline or with ibuprofen, over the bone loss caused by experimental peritonitis. Twenty female rats (Wistar) were used in four groups (n=5): GC, control; GL, with ligature; GD, with ligature and treated with 0,14 mg of doxycycline; GI, with ligature and treated with 0,42 mg of ibuprofen. After the period of twenty eight days, the animals were sacrificed and their left part of its jaw were defreshened and radiographed in digital x-ray and evaluated about the periodontal bone support (PBS), then photographed by a digital camera fixed in a stereoscopic microscope for the evaluation the alveolar bone loss. The images were evaluated in the program Image Tool for windows version 2.0 ((UTHSCSA) and the results were submitted to a variance analysis test (ANOVA, Tukey) at of 5% level. The medium value of PBS (%) shows that GL (39,13±11,55) was statistically lower than GC (58,09 ± 3,18) ($p=0,001$). GD (48,65 ± 4,98) and GI (48,54 ± 4,94) were equivalent between themselves and to GC and GL. In relation of bone loss noticed that GC (0,75 ± 0,06) were lower than GD (1.04±0.10) and GL (1.05±0.27), and equivalent to GI (0,89 ±0,06). Based in these results we could conclud that the use of low dose of doxycycline or ibuprofen did not reduce the alveolar bone loss caused by experimental periodontitis in rats.

Key Words: Low dose Doxycycline. Ibuprofen. Periodontitis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Medidas lineares convertidas em dados percentuais do suporte ósseo periodontal (SOP), remanescentes nos grupos experimentais.	42
Tabela 2	Resultados da ANOVA, referente aos dados do SOP intergrupos.	43
Tabela 3	Resultados da Comparação Múltipla de Tukey para a localização das diferenças entre os grupos para o suporte ósseo periodontal (SOP).	43
Tabela 4	Representação em ordem decrescente de médias encontradas no suporte ósseo periodontal (SOP) constituindo grupos homogêneos.	43
Tabela 5	Valores médios referente à distância JCE-CO no primeiro molar inferior.	44
Tabela 6	Dados encontrados na análise intergrupos, submetidos ao Teste ANOVA.	45
Tabela 7	Resultados da Comparação Múltipla de Tukey para a localização das diferenças entre os grupos para a distância da JCE-CO considerando o primeiro molar inferior.	45
Tabela 8	Representação em ordem decrescente das médias encontradas para a distância da JCE-CO (mm) nas raízes do primeiro molar inferior constituindo grupos homogêneos.	46
Tabela 9	Dados referentes às mensurações da Junção Cimento Esmalte JCE-CO no hemiarco da região diretamente envolvida.	47
Tabela 10	Resultados da comparação entre as médias para análise intergrupos, considerando o hemiarco da região diretamente envolvido.	47
Tabela 11	Comparação múltipla dos dados descritivos para a localização das diferenças entre os grupos para a distância da JCE-CO considerando o hemiarco da região diretamente envolvida.	48
Tabela 12	Representação em ordem decrescente das médias encontradas para a distância da JCE-CO (mm) no hemiarco da região diretamente envolvida constituindo grupos Homogêneos.	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	a) Sistema RVG® (RadioVisioGraphy-Trophy radiology inc.- Marietta/USA). b) posicionamento padronizado da mandíbula sobre o sensor do sistema. c) Programa de análise do SOP Image Tool (UTHSCSA).	39
Figura 2	Pontos de referência utilizados para o cálculo do SOP.	39
Figura 3	Mandíbulas coradas em violeta de genciana e marcadas para avaliação morfométrica da distância JCE-CO para a primeira e segunda avaliação.	40
Figura 4	Comparação do SOP entre os grupos.	44
Figura 5	Comparação da distância JEC-CO entre os grupos na região do primeiro molar inferior.	46
Figura 6	Comparação da distância JEC-CO entre os grupos no hemiarco associado à região diretamente envolvida.	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 PATOGENIA DA DOENÇA PERIODONTAL	14
2.1.1 Mediadores Inflamatórios na Doença Periodontal	14
2.1.1.1 Citocinas	14
2.1.1.2 Metaloproteinases da Matriz	16
2.2 ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS	20
2.3 PROPRIEDADES DAS DOSES SUBANTIMICROBIANAS DE DOXICICLINA	25
2.4 MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA PERIODONTAL	31
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MATERIAL E MÉTODO	36
4.1 ANIMAIS	36
4.2 ANESTESIA	37
4.3 INDUÇÃO DA PERIODONTITE	37
4.4 SACRIFÍCIO	38
4.5 ANÁLISE RADIOGRÁFICA	38
4.6 ANÁLISE MORFOMÉTRICA	40
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5 RESULTADOS	42
5.1 SUPORTE ÓSSEO PERIODONTAL (SOP) NA REGIÃO DO PRIMEIRO MOLAR INFERIOR	42
5.2 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR NA REGIÃO DO PRIMEIRO MOLAR INFERIOR	44
5.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA DISTÂNCIA JCE-CO DO HEMIARCO ENVOLVIDO	47
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55
ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma alteração patológica, causada por infecção microbiana que envolve os tecidos periodontais; tendo, como consequência, a degradação do colágeno tecidual, levando à perda de inserção conjuntiva dos ligamentos periodontais e reabsorção óssea. A resposta do hospedeiro diante da infecção, leva a alterações teciduais, resultando na formação de bolsas periodontais, representadas pela migração do epitélio no sentido apical dos dentes, formando um espaço entre a superfície radicular e o tecido gengival (PAGE; SCHROEDER, 1982).

A degradação tecidual ocorre em consequência da secreção de enzimas, entre elas a colagenase, tanto por células do hospedeiro como pela bactéria invasora. Estas células do hospedeiro, macrófagos, neutrófilos (PMN), fibroblastos e células queratinosas, têm se mostrado com capacidade de síntese e secreção de grandes quantidades de colagenase em áreas com atividade de doença periodontal. Estas células são ativadas por substâncias bacterianas e citocinas inflamatórias, presentes na doença. Foi demonstrada uma correlação positiva entre a gravidade da doença e o nível da enzima colagenase no tecido gengival e no fluido do sulco gengival (GCF). O colágeno, que forma a base estrutural do periodonto, é degradado pela colagenase, promovendo o desarranjo tecidual. Esta enzima pertence à família das metaloproteinases da matriz extracelular (MMP), as quais utilizam íons metálicos para se ligar ao sítio ativo que degradam a matriz extracelular. Evidências do papel das MMP na destruição periodontal vêm demonstrando que um desequilíbrio entre a MMP e seus inibidores endógenos gera defeitos patológicos na matriz extracelular nas periodontites (RYAN; RAMAMURTHY; GOLUB, 1996). Estes esclarecimentos têm estimulado novas pesquisas para um grande número de inibidores sintéticos que possam ser usados como agentes terapêuticos para as periodontopatias, como

o uso da dose subantimicrobiana de doxiciclina e de antiinflamatórios não esteroidais (AINES).

A doxiciclina era inicialmente indicada como antibiótico de largo espectro para uma variedade de doenças, inclusive doenças periodontais. Porém, quando administrada em dose subantimicrobiana, tem mostrado ausência de ação antimicrobiana sem criar microrganismos resistentes (WALKER et al., 2000). Dentre as propriedades não antimicrobianas podemos citar a inibição da atividade da enzima colagenase, diminuição da reabsorção óssea e a promoção da adesão de fibroblastos à superfície radicular dos dentes. A propriedade antiinflamatória das tetraciclina é caracterizada pela ação anticolagenolítica, representada pela ação inibitória sobre a MMP.

As prostaglandinas E2 (PGE₂) e outros metabólitos do ácido aracdônico, têm papel reconhecido como mediadores nos processos inflamatórios das periodontites. Prostaglandinas E2 (PGE₂), são mediadores inflamatórios produzidos pela ciclooxigenase e que possuem importante papel na patogênese da doença periodontal. O uso de AINES como inibidor sintético pode agir sobre a síntese das PGE₂ de forma direta ou indireta sobre o mecanismo da enzima COX-2. No passado, pensou-se que a COX era uma enzima solitária que constituía a maioria das células, hoje se sabe a existência de outras formas de COX, (OFFENBACHER; HEASMAN; COLLINS, 1993).

O conhecimento do mecanismo de evolução da doença periodontal é de grande importância, pois é através deste conhecimento que se pode compreender o evento biológico associado à degradação dos tecidos periodontais, possibilitando a intervenção terapêutica e amenizando ou impedindo a evolução da doença. A utilização de modelo animal para o estudo da evolução da doença periodontal,

permite observar in vivo os mecanismos da inflamação tecidual (KUHR et al., 2004). Dentre os animais utilizados em protocolos de doença periodontal, o uso de ratos Wistar tem tido boa aceitação, por representarem uma alternativa de baixo custo, serem animais de fácil manuseio e apresentarem características anatômicas e funcionais que podem atuar como referência para estudos em humanos (SALLAY et al., 1982).

Considerando estes aspectos, pode-se imaginar que a utilização de produtos sintéticos, como doses subantimicrobianas de doxiciclina ou os antiinflamatórios não esteroidais, possa atuar na modulação da resposta inflamatória do hospedeiro, interferindo na perda óssea alveolar em periodontites experimentais em ratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PATOGENIA DA DOENÇA PERIODONTAL

A etiologia da doença periodontal é de origem bacteriana, é um processo dinâmico e multifatorial que sofre influência de fatores ambientais resultante da resposta do hospedeiro diante da agressão sofrida pelos microrganismos que compõem o biofilme dental. Esta interação entre agressor e hospedeiro caracteriza a patogênese da doença. No entanto, existem muitos paradigmas sobre a biologia das periodontites e o que se sabe é que níveis elevados de mediadores pró-inflamatórios originados no hospedeiro, entre eles: citocinas (tromboxano A_2 , interleucina 1β , interleucina 6 e fator de necrose tumoral), prostaglandinas (PGE_2) e leucotrienos B_4 , estão sempre presente no sulco gengival em sítios com a doença (PAGE, 1991).

2.1.1 Mediadores Inflamatórios na Doença Periodontal

2.1.1.1 Citocinas

As citocinas são um grupo heterogêneo de peptídeos ou glicoproteínas, secretadas por vários tipos de células que funcionam como sinalizadores entre elas, regulando a resposta imune do hospedeiro à agressão sofrida pelas bactérias. Este sistema regulador pela qual, estas células sinalizam esta relação, resposta do hospedeiro diante do agente agressor, funciona em forma de cascata, em que o aparecimento de algumas células, leva ao aumento de outras. Como exemplo, citocina IL-1 estimula a liberação de IL-2, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF).

Quando a presença do biofilme dental se estabelece na margem gengival, endotoxinas, como exemplo, os lipopolissacarídeos, citocinas, dão início ao processo inflamatório. O TNF é uma citocina produzida principalmente por macrófagos, capazes de induzir a ativação de osteoblastos, para possibilitar, de forma indireta, a ação de osteoclastos no sítio inflamatório. Este mediador atua de forma determinante na composição e na atividade funcional do infiltrado inflamatório, sendo associado à severidade das lesões e à destruição óssea das periodontites. Além disso, os mediadores inflamatórios têm sido relatados na literatura como implicados não apenas na etiologia, mas também como responsáveis pela perpetuação da destruição do tecido ósseo, que caracteriza a periodontite crônica (HEASMAN et al., 1993; PAGE, 1991). Os leucotrienos LTB₄ são mediadores inflamatórios da via lipoxigenase (LO), produzidos pelos neutrófilos e outras células, sendo responsáveis pelo recrutamento adicional de neutrófilos e monócitos para o sítio da inflamação. Todos esses mediadores: PGE₂, TxB₂ e LTB₄ têm sido encontrados em níveis mais elevados no fluido gengival de indivíduos com periodontites (OFFENBACHER et al., 1984; 1989; PAGE, 1991). Com a descoberta da atividade desses mediadores pró-inflamatórios inúmeras pesquisas têm sido realizadas visando esclarecer os diversos mecanismos que envolvem o processo inflamatório no periodonto patológico e com isto, buscar terapias alternativas que possam modular a resposta imunoinflamatória do hospedeiro. Desta forma, estas terapias buscam controlar a produção de MMP, dos produtos do ácido aracdônico e o metabolismo do tecido ósseo.

2.1.1.2 Metaloproteinases da Matriz Extracelular (MMP)

As metaloproteinases da matriz extracelular (MMP) são enzimas pertencentes à família do zinco e dependentes do cálcio, secretadas ou liberadas por uma variedade de células do hospedeiro como; leucócitos, macrófagos, células ósseas e fibroblastos, que atuam em pH neutro utilizando vários constituintes da matriz extracelular como seus substratos. Estas metaloproteinases estão envolvidas em diversos eventos fisiológicos como: o desenvolvimento do embrião, remodelação de tecidos e erupção dos dentes. Assim como numa variedade de processos patológicos incluem; artrites, câncer, enfisema pulmonar, osteoporose e doenças periodontais. Acredita-se que uma pequena porcentagem dessas enzimas esteja envolvida nos processos fisiológicos, enquanto uma porcentagem maior dessa enzima é ativada na presença dos processos patológicos. Desta forma ocorre degradação das matrizes extracelulares, contribuindo para a destruição dos tecidos como ocorrem nas periodontites (GOLUB; CIANCIO; RAMAMURTHY, 1990).

O papel da MMP nos processos fisiológicos e patológicos tem sido discutido na literatura referente à doença periodontal e de outras patologias sistêmicas. Com isto, abre caminhos para pesquisas em busca de mecanismos adicionais na modulação da resposta do hospedeiro, onde se inclui o uso das tetraciclinas que atuam inibindo as MMPs sintetizadas por células ósseas (osteoblastos e osteoclastos) e os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) que atuam modulando a resposta do hospedeiro inibindo a destruição do tecido ósseo.

Shibutani et al. (1997) analisaram a atividade dos osteoclastos e a degradação da matriz no processo inflamatório nas periodontites induzidas por ligaduras em cães da raça Beagle. A ligadura para indução da doença periodontal foi realizada usando fios de seda e posicionada apical à gengiva marginal nos molares inferiores

por três, sete e 21 dias. Foram colhidas amostras no fluido do sulco gengival (GCF), soro e urina no dia zero e nos dias três, sete, 14 e 21 dias após o início da indução. Para análise da atividade dos osteoclastos utilizou-se o método histoquímico fosfatase ácido tártaro resistente (TRAP), o método ELISA foi utilizado para detectar o produto da degradação da matriz óssea e para análise bioquímica utilizou-se um marcador específico. No dia três após a indução, verificou-se que o tecido gengival apresentava aspecto avermelhado, pouco edema, leve sangramento à sondagem e as células TRAP mono e multinuclear estavam presentes no tecido conjuntivo gengival. Nos estágios sete e 21 dias após a indução, os osteoclastos estavam presentes na gengiva e no osso alveolar. Após sete dias da indução, o edema apresentava-se mais severo, a gengiva avermelhada e maior sangramento. Após 21 dias de indução o periodonto mostrou sinais de inflamação crônica, com acúmulos de biofilme dental, formação de bolsas, gengiva vermelha escura e leve proliferação de tecido gengival e a reabsorção óssea ocorreu primeiramente na vertente óssea. Estes achados fizeram com que os autores acreditassem que a perda de inserção dos ligamentos se manifesta primeiramente na vertente alveolar em consequência da reabsorção óssea alveolar e posteriormente esta perda de inserção ocorre na superfície dental.

Ebersole et al. (2000) realizaram pesquisas em *Macacas fascicularis* para avaliar os mediadores inflamatórios imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina G (IgG), assim como a microbiota envolvida na gengivite, relacionados à susceptibilidade a periodontite. Para análise dos mediadores inflamatórios utilizaram o método ELISA e, para avaliar o biofilme subgengival, análise microbiológica colhida no fluido do sulco gengival. A indução da gengivite experimental foi realizada através da utilização de dieta pastosa durante trinta dias. E, para indução da periodontite

experimental, três dentes de um quadrante receberam ligadura por outros noventa dias. Os níveis dos mediadores inflamatórios, os parâmetros clínicos e microbiológicos da gengivite experimental foram avaliados nos dias sete, 14 e trinta dias e após trinta, sessenta e noventa dias para a periodontite experimental. Os pesquisadores, quando compararam os mediadores inflamatórios no tecido gengival pré-existente com o perfil inflamatório dos dois grupos, nos quais foram induzidos a gengivite e a periodontite experimental, encontraram diferentes tipos de mediadores inflamatórios, em especial imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina G (IgG). Verificaram também que a microbiota que compunha o fluido gengival apresentava diferenças quantitativa e qualitativa em função da progressão da doença e isto era similar às alterações vistas nos parâmetros clínicos. Diante desses achados, os autores observaram que a concentração dos mediadores inflamatórios, bem como os parâmetros clínicos e microbiológicos apresentaram alterações mais acentuadas em associação com a evolução da doença periodontal.

Preshaw e Heasman (2002) realizaram estudo longitudinal de coorte em humanos com periodontite moderada e agressiva, avaliando as concentrações de prostaglandina E₂ no fluido do sulco gengival. As amostras foram coletadas no fluido do sulco gengival e analisados os níveis de PGE₂ no fluido gengival e os parâmetros clínicos (profundidade de bolsa, nível de inserção e sangramento) a cada trinta dias durante cinco meses. A quantificação da PGE₂, foi conseguida comparando-se à curva padrão conhecida com a curva padrão encontrada neste estudo. As sondagens foram realizadas por um mesmo examinador no período de zero a 150 dias do experimento. Foi verificado aumento gradual e significativo nas concentrações de PGE₂ no fluido gengival com a evolução do estudo. O volume no fluido gengival não apresentou nenhuma alteração significativa durante o estudo,

porém observou-se uma ligeira redução na profundidade de sondagem. Diante dos resultados obtidos, os autores sugeriram que estes mediadores no fluido do sulco gengival devam ser monitorados em estudos clínicos, e que as concentrações e o índice absoluto do mediador sejam calculados empregando-se um protocolo patronizado.

Pozo et al. (2005) procuraram correlacionar a quantidade de metaloproteinase da matriz extracelular (MMP) e de um inibidor tecidual da metaloproteinase (TIMP) encontrado no fluido gengival, em indivíduos com periodontite crônica. O grupo teste era formado por indivíduos com periodontite crônica, moderada à severa, com profundidade de sondagem ≥ 5 mm, perda de inserção de ≥ 3 mm e extensa perda óssea. O grupo controle apresentava-se sem doença periodontal. Preliminarmente ao estudo, todos os indivíduos foram submetidos à raspagem e alisamento radicular (RAR). Depois de tres e seis meses foram obtidas amostras do fluido gengival para análise. Foi avaliada a presença de MMP-9, MMP-8, a atividade de MMP e os níveis de TIMP. Após a RAR, todos os parâmetros do grupo teste aproximaram a valores similares aos do grupo controle. Na análise da atividade gelatinase, os resultados obtidos não permitiram uma associação com a severidade da doença. A atividade da colagenase e da gelatinase (MMP), mostroua que os valores encontrados inicialmente reverteram a valores normais após o tratamento, chegando a níveis similares do grupo saudável. A MMP-8, encontrada antes e após a RAR não apresentou diferenças significantes. A análise do TIMP em indivíduos com periodontite avançada mostrou, após o tratamento, uma redução significativa em seus valores em todos os sítios da doença. As correlações entre parâmetros clínicos e avaliações enzimáticas foram significativamente positivas entre a MMP inicial e os valores encontrados antes do tratamento. Os pesquisadores concluíram haver

correlações positivas entre a gravidade da doença periodontal e a atividade da MMP.

2.2 ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS

O mecanismo de ação dos antiinflamatórios não esteroidais (AINES) ou não hormonais (AINH), ocorre através da inibição de um sistema enzimático denominado ciclooxigenase (cox); o qual é responsável pela síntese de diferentes tipos de prostaglandinas. Existem dois tipos COX, denominadas COX-1 e COX-2. A inibição da COX-1 está relacionada aos efeitos adversos dos AINES, como por exemplo, irritação da mucosa gástrica. A COX-2 está relacionada ao processo inflamatório, o que faz ser de interesse dos pesquisadores, procurando a síntese de fármacos seletivos para a COX-2, que é o tipo de COX responsável pela síntese de mediadores inflamatórios como a prostaglandina, combatendo especificamente a inflamação. O uso de AINES como o flurbiprofeno e o ibuprofeno são relatados na literatura como capazes de inibir a síntese de prostaglandina, através da interferência desse fármaco na via ciclooxigenase, responsável pela síntese de importantes metabólitos como as prostaglandina e os leucotrienos (HEASMAN et al., 1993; TAIYEB; WAITE, 1993).

Taiyeb e Waite (1993) avaliaram os efeitos do uso sistêmico do ibuprofeno na inflamação gengival em humanos, quando administrado isoladamente ou associado à raspagem e alisamento radicular (RAR) no tratamento da doença periodontal crônica. Os autores avaliaram as condições clínicas periodontais durante um período de oito semanas. Os indivíduos foram divididos aleatoriamente em dois grupos; o grupo teste recebia 200 mg de ibuprofeno quatro vezes ao dia e o grupo controle

não recebia tratamento algum com este fármaco. Os autores observaram nas raízes com sítios submetidos a RAR, que os níveis do biofilme dental nos diversos intervalos de tempo não apresentavam nenhuma diferença estatística. Os parâmetros clínicos observados nos dois grupos tiveram uma melhora após o tratamento. Porém, o grupo que recebeu o medicamento não apresentou diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo controle. Diante desses resultados os autores concluíram que a aplicação clínica com este fármaco não se justificaria. No entanto, eles sugeriram que novas pesquisas com AINES sejam realizadas para avaliar melhor o uso desses fármacos no tratamento das gengivites.

Heasman et al. (1993) avaliaram os efeitos do flurbiprofeno de uso sistêmico na prevenção e tratamento das gengivites em humanos, analisando parâmetros clínicos e a liberação dos mediadores prostaglandina (PGE_2), tromboxano (TxB_2) e leucotrienos LTB_4 . Foi realizado estudo duplo-cego onde amostras foram colhidas do fluido gengival para análise bioquímica visando determinar as concentrações dos mediadores pró-inflamatórios: prostaglandina (PGE_2), tromboxana (TxB_2) e leucotrieno LTB_4 no GCF. Para análise clínica e diferenças bioquímicas entre os grupos, usou-se o teste t Student. A concentração de PGE_2 no GCF, não mostrou nenhuma mudança significativa durante o período de tratamento entre o grupo que recebeu placebo e o grupo tratado com o fármaco. As concentrações dos mediadores da ciclooxigenase, ou seja, PGE_2 e TxB_2 no grupo tratado com flurbiprofeno permaneceram estável durante os 28 dias. No grupo controle estas concentrações permaneceram estáveis até o dia 21, a partir desse período elevou-se acentuadamente até o período final do experimento, dia 28, mostrando que o fármaco impediu a elevação acentuada de PGE_2 e TxB_2 , no grupo tratado na última semana. Diante desses resultados, os autores observaram que o flurbiprofeno

possui propriedade preventiva e terapêutica controlando a inflamação gengival, agindo como mediador dos metabólitos da ciclooxigenase e afetando indiretamente os níveis de leucotrienos B₄ (LTB₄).

Holzhausen et al. (2002) estudaram os efeitos do uso sistêmico da celecoxib, um inibidor seletivo da COX-2 em ratos com periodontite induzida por ligadura. Analisando a concentração, células sanguíneas e a perda óssea. Todos os animais receberam indução da periodontite através de ligadura com fio de algodão, colocado ao redor dos primeiros molares inferiores direito. Após 24 horas da indução, os ratos foram aleatoriamente divididos em tres grupos compostos por sessenta animais cada e recebiam a seguinte medicação diariamente. Dois grupos recebiam respectivamente 10 mg/ kg e 20 mg/kg da celecoxib e o terceiro grupo recebia 0,9% de NaCl (grupo controle). Doze animais de cada grupo foram sacrificados nos dias três, cinco, dez, 18 e trinta. O exame radiográfico foi utilizado para determinar o nível de perda óssea através de fotografia digital padronizada e obtida as medidas por meio de um programa de imagem computadorizada. A análise de variância foi utilizada para avaliar o efeito dos medicamentos utilizados nos dois grupos tratados e o período de sacrifício, através da média da perda óssea radiográfica. Diante disto, os pesquisadores verificaram que as concentrações de celecoxib foram maiores nos animais com período três, 18 e trinta dias de sacrifício e, que receberam dose maior desse fármaco. No grupo controle, que recebeu apenas solução salina, as porcentagens de neutrófilos, monócitos e linfócitos foram significativamente mais elevados do que nos grupos tratados com o celecoxib e nenhuma diferença foi encontrada nas porcentagens de eosinófilos e basófilos entre os grupos controle e grupos tratados. O exame radiográfico mostrou que a perda óssea alveolar foi mais evidente no período superior a trinta dias. Diante dos

resultados obtidos os pesquisadores não constataram o verdadeiro papel desse inibidor da cox-2 nos processos de periodontites crônicas.

Holzhausen et al. (2005) avaliaram os efeitos do uso sistêmico da etoricoxib, na prevenção da destruição óssea pela doença periodontal induzida em ratos. A ligadura foi fixada com fio de algodão ao redor do primeiro molar inferior direito de cada animal. Após 24 horas os ratos foram aleatoriamente divididos em tres grupos com trinta animais cada, e recebiam diariamente o seguinte tratamento: Eto1, recebiam 6 mg/ kg de etoricoxib; Eto2, recebiam 12 mg/ kg do fármaco e Eto3, (grupo controle) recebiam 1ml/ kg do peso do animal de solução salina a 0,9%. No período três, cinco, dez, 18 e trinta dias após o início do tratamento os animais foram sacrificados. Foram avaliadas as concentrações de etoricoxib e de glóbulos brancos no sangue. Nos grupos tratados a perda óssea alveolar foi menor quando comparado ao período que antecedeu o experimento. A perda óssea alveolar foi significativamente menor ($p < 0,05$), nos animais tratados com etoricoxib do que no grupo controle observado em todos os períodos de tratamento. Porém, não observaram diferença estatística na perda óssea alveolar entre os grupos que receberam doses diferentes do medicamento. Os autores concluíram que o tratamento sistêmico com etoricoxib reduz a perda óssea alveolar na periodontite experimental induzida em ratos.

Rosin et al. (2005) investigaram os efeitos do uso local do dexibuprofeno a 1,5% como anti-séptico bucal na gengivite experimental em humanos e se a ação tópica do AINES poderia ser equivalente aos efeitos sistêmicos, sem causar efeitos adversos na mucosa gastrintestinal. Duas semanas que antecederam o início do estudo, todos os participantes foram submetidos à profilaxia por um profissional habilitado e orientados sobre a técnica de escovação e uso de fio dental. A fase de

indução durou 22 dias, neste período os participantes foram instruídos a não escovar a região de primeiro e segundo pré-molares e molares de um quadrante superior. Visou-se acumular biofilme dental naquele sítio, para induzir a doença periodontal. Após este período, foi determinado que os participantes utilizassem enxágües com 1,5 de dexibuprofeno ou placebo três vezes ao dia, bochechando 15 ml de uma dessas soluções por 1 min, durante oito dias. Foram realizadas análises nos dias zero, sete, 14 e 22. Foi observado aumento do índice gengival (GI) e do índice de placa (QHI) no período em que ocorreu indução. O GI e o QHI para o grupo que utilizou o dexibuprofeno e o grupo placebo não mostraram diferenças durante o período de indução. O efeito estatístico do índice de placa foi significativo nas duas fases do estudo. Os autores sugeriram que futuras investigações a respeito do uso tópico do dexibuprofeno no tratamento das patologias periodontais devam ser realizadas.

Sekino, Ramberg e Lindhe (2005) investigaram o efeito da administração sistêmica do ibuprofeno na formação do biofilme na gengivite experimental em humanos. Todos os indivíduos receberam orientação sobre higiene oral e tratamento profilático pelo dentista duas semanas antes do período experimental no estágio zero. Após esta etapa, todos os indivíduos foram orientados a se abster de todas as medidas de controle mecânico do biofilme dental. Podiam apenas fazer enxágües com 10 ml de clorexidine a 0,1 % durante 60 s, sendo este o controle positivo. E o controle negativo com solução salina ou 200 mg de ibuprofeno duas vezes ao dia, como controle positivo. Transcorridos estes 14 dias, todos foram re-examinados e submetidos a um novo procedimento de limpeza mecânica, a ser realizada pelo profissional. O biofilme dental subgengival foi coletado para análise de microscopia de campo escuro e contagem de bactérias. Os autores encontraram como

resultados, que em indivíduos que fizeram uso de enxágües como solução salina, ocorreu acúmulo de grande quantidade de biofilme e desenvolveu sinais evidentes da gengivite. Nos indivíduos que usaram clorexidine ocorreu pouca formação do biofilme. Após duas semanas de uso sistêmico com o ibuprofeno, o índice gengival (GI) foi ≥ 2 , a formação do biofilme foi similar ao formado durante o período de controle negativo. Diante desses resultados, os autores verificaram que o uso do ibuprofeno teve efeito sobre os tecidos gengivais não interferindo na formação do biofilme.

2.3 PROPRIEDADES DE DOSES SUBANTIMICROBIANAS DE DOXICICLINA

A literatura relata que os efeitos não antimicrobianos das tetraciclinas estão relacionados à sua capacidade de modular a resposta do hospedeiro. Primeiramente estão associadas com a inibição da ativação da enzima colagenase do hospedeiro e da migração de células à superfície radicular do dente. A propriedade desse fármaco pode ser clinicamente vantajosa para o tratamento de uma variedade de processos patológicos como as artrites e doença periodontal, devido a sua habilidade de modular várias respostas do hospedeiro, além de realçar a formação do colágeno e do tecido ósseo na fase em que estes processos foram diminuídos durante a doença.

Grevstad e Boe (1995) estudaram se a doxiciclina adicionada à água poderia influenciar no recrutamento de osteoclastos na periodontite induzida cirurgicamente em modelo animal. Quarenta ratos Wistar, machos com peso médio de 200 g foram aleatoriamente separados em dois grupos iguais. Um grupo recebeu injeção subcutânea de uma solução aquosa (grupo controle). O osso alveolar foi submetido

a ar seco por 2 min para estimular a atividade dos osteoclastos. O outro grupo experimental recebeu 0,5 mg/ ml de doxiciclina adicionado à água durante o período experimental de um a dez dias. Após este período, dois ratos de cada grupo foram sacrificados diariamente e os espécimes preparados para análise por microscópio de luz. Dez cortes histológicos de cada espécime foram utilizados para contagem de osteoclastos. Os pesquisadores verificaram que no terceiro dia após a cirurgia já havia osteoclastos na superfície óssea do grupo controle e somente após o quinto dia foi observado osteoclastos na superfície óssea do grupo tratado com doxiciclina. O número de osteoclastos encontrados era dependente do tempo dentro de cada tratamento. E entre os tratamentos, o grupo que usou doxiciclina apresentou menor número de osteoclastos. Os autores verificaram que a administração sistêmica da doxiciclina reduz a diferenciação e o número de osteoclastos nos eventos pós-cirúrgicos.

Crout et al. (1996) avaliaram o ciclo da dose subantimicrobiana de doxiciclina. Realizaram estudo duplo cego e caso controle num período de seis meses em regimes cíclicos de dose subantimicrobiana de doxiciclina em cápsulas ou placebo. Neste estudo foram analisados a atividade colagenase, degradação de uma proteína inibidora de proteinase (α 1-PI), presente no fluído gengival em diferentes períodos de tempo. Não foi encontrada diferença significativa no índice de placa e índice gengival nos grupos tratados com placebo e pela doxiciclina. No entanto, o nível de inserção, profundidade de bolsa e atividade colagenase no fluído gengival (GCF) e a degradação do α 1-PI apresentava-se estatisticamente menor ($p < 0.05$) nos grupos tratados pelo fármaco. Os autores concluíram que o uso de dose subantimicrobiana de doxiciclina pode ser útil à terapia de instrumentação,

porém, há necessidade de estudos futuros para confirmação da eficácia desse fármaco em período de tempo superior a um ano.

Karimbux et al. (1998) estudaram a influência sobre a expressão do RNA mensageiro (RNAm) do colágeno tipo I e XII e posteriormente avaliaram os efeitos da doxiciclina (DOXI), e de uma tetraciclina quimicamente modificada (CMT-1) na reparação da destruição óssea causada pela doença periodontal induzida em modelo animal. Vinte e quatro ratos Sprague-Dawley adulto foram inoculados com *Porphyromonas gingivalis* obtidos de humanos para induzir a periodontite experimental. Transcorridos dez dias da inoculação, os animais foram divididos em seis ratos por grupo, tratados diariamente por um período de cinco semanas. Sendo: G1, infectados, porém não medicados (controle); G2 tratados por gavagem com Doxiciclina (Doxi 5 mg/animal por dia); G3, tratados com tetraciclina quimicamente modificada CMT-1 e G4, não infectados (controle). Eles verificaram que o grupo G1 mostrou leve hibridização nas áreas de infecção. Os grupos G2 (doxi) e G3 (CMT-1) mostraram co-expressão de colágenos tipo I e XII no tecido conjuntivo periodontal e na parte coronal do ligamento periodontal. Os resultados no grupo G4 mostraram níveis relativamente mais baixos do tipo colágeno I e uma expressão relativamente mais elevada do tipo colágeno XII no tecido conjuntivo periodontal. Os autores concluíram que a doxiciclina e CMT-1 moderam ou reduzem os efeitos inibitórios da infecção periodontal na expressão do mRNA do colágeno tipo I e tipo XII, sugerindo que o uso desses fármacos podem reduzir a destruição periodontal pela reversão do efeito inibitório da infecção periodontal na síntese de colágeno.

Walker et al. (2000) avaliaram os efeitos do uso de subdose da doxiciclina (SDD) a 20 mg ao dia no período de nove meses. Nesse estudo, 76 indivíduos aleatoriamente escolhidos receberam SDD ou placebo. O tratamento para cada

indivíduo foi segmentado em quadrantes. Um quadrante foi submetido a tratamento clínico com raspagem e alisamento radicular (RAR). O quadrante oposto não recebia nenhum tratamento. Os participantes recebiam aleatoriamente doxiciclina ou placebo e foram divididos em quatro grupos. Dois grupos recebiam raspagem (RAR) e outros dois grupos não, e todos foram medicados com doxiciclina ou placebo. Os 67 indivíduos que completaram os nove meses de tratamento foram convidados a continuar por outros três meses sem receber nenhum tipo de tratamento. As amostras microbianas foram coletadas usando cone de papel endodôntico, antes e após três, seis e nove meses do tratamento e também após os três meses em que não ocorreu nenhum tipo de tratamento e foram analisadas por microscopia de campo escuro e por meios de cultura seletiva e não seletiva. Os resultados apresentaram diminuição estatisticamente significativa na proporção de espiroquetas e aumento na proporção da forma cocóide em relação a microbiota com o decorrer do tempo. Não foi observada diferença no tratamento entre o grupo que utilizou a SDD e o placebo associado ou não com RAR. Através desse estudo, os pesquisadores observaram que o uso da dose subantimicrobiana de doxiciclina em períodos superior a nove meses apresentou diferenças microbianas que foram atribuídas à redução da bolsa periodontal como consequência da atividade anticolagenase e antiinflamatória da doxiciclina.

Caton et al. (2000) estudaram a eficácia e a segurança na indicação da dose subantimicrobiana de doxiciclina (SDD) associado à procedimentos clínicos de raspagem e alisamento radicular (RAR) em humanos. Foram avaliados 190 indivíduos com idade entre trinta e 75 anos, que apresentavam bolsa periodontal entre cinco e 9 mm em pelo menos dois sítios. Todos foram submetidos ao tratamento clínico de RAR e aleatoriamente receberam 20 mg de doxiciclina ou

placebo diariamente por um período de nove meses. Posteriormente, as amostras microbianas foram coletadas para análise, onde constataram que nos eventos onde a doxiciclina estava associada à RAR nos períodos de três, seis e nove meses ocorreu redução na perda de inserção em sítios de periodontite. Os autores concluíram que o tratamento com dose submicrobiana de doxiciclina associado a RAR em humanos é mais eficaz do que quando se usa a RAR separadamente.

Llavaneras et al. (2001) avaliaram a combinação da doxiciclina quimicamente modificada e de um bisfosfonato atuando sinergicamente na inibição da destruição dos tecidos periodontais em periodontite induzida por endotoxina em ratos. Os animais eram medicados semanalmente com 1 mg/ml de bisfosfonato ou 1 mg/dia com doxiciclina. Avaliou-se a atividade de colagenase, gelatinase e elastase. Foi observado, que o tratamento monoterápico com doxiciclina e com o bisfosfonato reduzia parcialmente as atividades das metaloproteinases da matriz extracelular (MMP). Porém a doxiciclina parece ser mais eficiente do que o bisfosfonato. No entanto, a combinação desses fármacos potencializou a inibição da destruição óssea.

Bezerra et al. (2002) investigaram o uso sistêmico de subdose de doxiciclina \leq 10 mg/ml/dia durante 7 dias na prevenção da reabsorção óssea nas doenças periodontais induzidas em ratos. Avaliou-se a perda óssea alveolar através de análise macroscópica em um hemi-arco enquanto no outro foi realizado, a análise histológica. Parâmetros histológicos foram baseados nos números de osteoclastos, processo alveolar, integridade do cemento e células do infiltrado inflamatório. Os autores verificaram que os animais que foram submetidos à indução da doença no período de sete dias, e medicados com a doxiciclina, exibiam inibição significativa na perda óssea e esta redução do osso alveolar foi acompanhada por uma diminuição

no número de células mononucleares e de osteoclastos, ocorrendo a preservação do cemento e do processo alveolar em relação ao grupo controle. A redução do número de osteoclastos nos grupos tratados com doxiciclina, observados neste estudo, pode ser devido à atividade desse fármaco diretamente sobre os osteoclastos, promovendo apoptose dessas células. Diante desses resultados, os pesquisadores verificaram que a dose subantimicrobiana de doxiciclina mostrou reduzir os efeitos da destruição óssea nas periodontites e que nenhum relato da atividade antimicrobiana foi verificada, evitando desta forma os riscos de resistência bacteriana à medicação.

Ramamurthy et al. (2002) estudaram seis tetraciclinas quimicamente modificadas (CMT-1, CMT-3, CMT-4, CMT-7 e CMT-8 e doxiciclina), comparando os efeitos mediadores da MMP na perda óssea de periodontite induzida por endotoxina em modelo animal. Utilizaram 96 ratos, Sprague-Dawley com 350 g de peso, nos quais foram injetados na gengiva entre o primeiro e segundo molar superior 10 µl de solução salina ou 1 mg/ml de endotoxina de *Escherichia coli* durante seis dias para a indução da doença. Em seguida os animais foram distribuídos em grupos de 12 ratos cada e medicados, respectivamente: G1, injeção de solução salina; G2, endotoxina; G3, endotoxina + CMT-1; G4, endotoxina + CMT-3, G5, endotoxina +CMT-4; G6, endotoxina +CMT-7; G7, endotoxina +CMT-8 e G8, doxiciclina. Todos os animais foram medicados por via oral com 1 ml de carboximetilcelulose (CMC) a 2% com uma dose de 6mg/kg do peso do animal. No dia sete, os animais foram sacrificados, os espécimes preparados e as amostras de sangue extraídas para mensurar as concentrações das tetraciclinas quimicamente modificadas (CMT) no soro. Foram analisadas às concentrações das CMTs no soro e a perda óssea. Os autores observaram que a endotoxina injetada nos animais, elevou a atividade da

gelatinase. As concentrações de CMT no soro mostraram que a CMT-8 alcançou nível mais elevado em seguida CMT-1, CMT-3, doxiciclina, CMT-4 e CMT-7, conforme a eficácia em inibir a destruição óssea periodontal. Ocorreu mínima atividade da enzima gelatinase nos animais que receberam solução salina injetada. Nos grupos injetados com endotoxina, o exame histológico apresentou lesões dentro do osso, caracterizado por osteopenia. A análise histomorfométrica indicou que a endotoxina aumentou a perda óssea ($p < 0,01$) quando comparado com o grupo que recebeu injeção de solução salina. O tratamento com CMT diminuiu o número de células imuno positivas para citocinas e MMP. Em estudo in vivo, a eficácia desse fármaco mostrou variações nas estruturas da CMT e foi significativamente correlacionada com a reabsorção óssea, inibição da atividade gelatinase e concentração do fármaco no soro. Diante do exposto, os autores sugeriram que mecanismos múltiplos e adicionais podem ser regulados por estes fármacos, reduzindo os níveis elevados dos mediadores pró-inflamatórios, reduzindo a atividade das MMP e aumentando os níveis de citocina antiinflamatória interleucina 10 (IL-10) resultando na modulação da osteogênese e reabsorção óssea.

2.4 MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA PERIODONTAL

A grande variedade de bactérias cultiváveis no sulco gengival e a impossibilidade de realizar estudos retrospectivos em humanos fazem com que o estudo sobre a patogenia da doença periodontal em humanos seja extremamente difícil. As estruturas e a organização dos tecidos que constituem o periodonto de ratos e de humanos são bastante similares, permitindo a simulação de diversas situações da doença em estudo com animais. Tais experimentos possibilitam a realização de

estudos prospectivos para a avaliação de parâmetros histopatológicos, microbiológicos e imunológicos da doença. Além desses fatores, o uso de ratos em estudo experimental da doença periodontal apresenta vantagem devido ao baixo custo, fácil manuseio, possibilidade de serem criados em laboratório e a rápida procriação destes animais.

Sallay et al. (1982) investigaram a destruição óssea alveolar em ratos imunossuprimidos. A inserção da ligadura em volta do segundo molar superior do rato convencional causou reabsorção óssea por osteoclastos e simultaneamente a reabsorção do osso alveolar. A Ciclofosfamida (CY), um agente imunossupressor dado logo após a inserção da ligadura, suprimiu as reações linfóides e tamanhos do baço. Verificou-se que sem a inserção da ligadura, a alta dose de CY não resultou em perda óssea. Portanto, esses achados sugerem que a destruição óssea de ligadura em ratos é de origem bacteriana e que a utilização de CY pode suprimir a proliferação de osteoblastos, mas não interferir com a atividade dos osteoclastos. Determinou-se então, que a supressão das defesas do organismo facilita a destruição óssea.

Klausen, Evans e Sfintescu (1989) estudaram a reprodução de um método morfométrico e um método radiográfico para descrever a correlação entre eles. Nestes estudos, foram utilizados 25 ratos. Neles, após a preparação das peças cirúrgicas, as perdas ósseas periodontais foram avaliadas no microscópio óptico, visando mensurar a distância da junção amelocementária à crista óssea alveolar. Nas radiografias ampliadas foram expressos defeitos no osso periodontal de suporte, no ápice localizado distalmente dos primeiros molares. Todas as medidas foram realizadas em duas ocasiões separadas. No segundo experimento cinquenta cabeças de ratos foram avaliadas por ambos os métodos e comparados as

variações totais encontradas. Uma significativa correlação foi encontrada entre os métodos. O método morfométrico determinou a perda óssea principalmente horizontal, e o método radiográfico detectou os defeitos ósseos interproximais. Concluiu-se que futuros estudos poderão ser beneficiados por estes métodos para avaliar a perda óssea alveolar em ratos.

Galvão e Rosing (2003) apresentaram uma técnica e um método descritivo das características histológicas da doença periodontal induzida em ratos. Induziram a periodontite com o uso de ligaduras, com ou sem dieta rica em sacarose. Foram incluídos vinte e quatro ratos Wistar fêmeas, adultos (sessenta dias) e estes foram divididos em quatro grupos: Grupo um ou controle; recebeu dieta padrão, Grupo dois; recebeu ligadura ao redor dos segundos molares superiores e dieta padrão, Grupo três recebeu dieta rica em sacarose e Grupo quatro recebeu ligadura ao redor dos segundos molares superiores e dieta rica em sacarose. Os animais foram acompanhados por um período de trinta dias, ao final do qual foram sacrificados. Os segundos molares superiores foram removidos e processados, para análise histológica. Os animais com ligadura (Grupo dois e quatro) mostraram características histológicas de periodontite, enquanto animais sem ligadura não apresentaram sinais de destruição periodontal. O uso de ligaduras, no presente trabalho, foi capaz de promover processo inflamatório crônico nos ratos, independentemente do tipo de dieta.

Kuhr et al. (2004) procuraram avaliar a destruição do tecido periodontal marginal induzindo periodontite por meio de ligadura colocada ao redor do segundo molar superior em modelo experimental animal. Utilizaram 35 ratos, machos os quais foram divididos em cinco grupos conforme o tratamento que recebiam. O grupo G1-B, (grupo base) não recebia ligadura e foi sacrificado no primeiro dia do estudo

experimental; G60-C, sem ligadura e foi sacrificado sessenta dias após o início do experimento (grupo Controle). Os outros três grupos; G15, G30 e G60 recebiam indução no período 15, trinta e sessenta dias respectivamente. Após estes períodos, cada grupo de animais foi sacrificado e as peças cirúrgicas preparadas para análise. Pontos pré-fixados e padronizados nas maxilas dos animais foram usados como referência para avaliar a destruição óssea, analisados através de um microscópio de luz com câmera colorida fixada ao computador. A análise da perda óssea foi mensurada através da distância da junção cimento-esmalte (CEJ) e dos pontos pré-fixados na maxila. Nos dois métodos de análise, os ratos sacrificados após sessenta dias do início do estudo e não submetidos à indução, apresentaram maior perda óssea do que os animais sacrificados no dia um e que também não sofreram indução. Na comparação entre o grupo G60-C e o grupo G60 com ligadura, verificaram que a destruição óssea foi significativamente maior na região onde ocorreu a indução. Os dois métodos também revelaram a ocorrência de maior perda óssea no período 15 dias (G15), no sítio com a ligadura em comparação com outro sítio sem indução. Após sessenta dias da indução, perceberam estabilizar a progressão da perda óssea verificando diminuição dos efeitos destrutivos da ligadura. Diante disso, os autores sugeriram que ao trabalhar com ratos, estes devem ser da mesma espécie e idade, visando diferenciar as possíveis alterações que possam ocorrer na periodontite experimental induzida. Sugeriram ainda, que a análise das diferenças de perda óssea no grupo controle, deva ser realizada pelo método da distância. E, a aplicação para este modelo de estudo foi recomendada para período menor ou igual 15 dias.

3 PROPOSIÇÃO

A proposta desse trabalho foi verificar a influência do uso de dose subantimicrobiana de doxiciclina ou de antiinflamatório não esteroideal; ibuprofeno, sobre a perda óssea alveolar em periodontite induzida em ratas.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 ANIMAIS

Foram utilizadas vinte ratas (*Rattus norvegicus*) albinas, da raça Wistar, com dez semanas de idade e pesando em torno de 250 g. Os animais foram mantidos em gaiolas em temperatura ambiente, alimentados com água e ração *ad libitum*, fornecidos pelo biotério do Departamento de Medicina da Universidade de Taubaté, São Paulo.

Os animais foram divididos em quatro grupos: GC, sem ligadura e sem tratamento; GL, com ligadura e sem tratamento; GD, com ligadura e medicados com 0,14 mg de cloridrato de doxiciclina contidos em solução com concentração de 0,7 mg/ml; GI, com ligadura e tratados com 0,42 mg de ibuprofeno contidos em solução com concentração de 0,21 mg/ml, foi utilizado como controle positivo (Quadro 1). Os medicamentos utilizados foram preparados pela Vivência Farmácia de manipulação – Pindamonhangaba, SP.

Todos os procedimentos para este trabalho foram realizados em conformidade com os princípios éticos para experimentação animal, adotados pelo Colégio de Experimentação Animal (COBEA) e foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade de Taubaté (Protocolo CEEA/ UNITAU nº. 012/2005 - anexo A).

4.2 ANESTESIA

Para os procedimentos de indução da doença periodontal, todos animais foram pesados antes da colocação das ligaduras, visando verificar ganho ou perda de peso após a indução e também para quantificar a dose ideal do anestésico geral a ser ministrado, assim como do relaxante muscular que foi associado à anestesia. A solução anestésica composta de cloridrato de ketamina (Dopalen, Laboratório Vetbrands) com o relaxante muscular composto por sedativo, analgésico com cloridarato de Xilazina (Anasedan, Laboratório Vetbrands), na proporção de 1:0,5 ml utilizando 0,1 ml para cada 100 g de peso do animal (RICARDO, 2002).

4.3 INDUÇÃO DA PERIODONTITE

Para a indução da doença periodontal, os animais receberam a inserção de um fio de linha de algodão número dez, marca Corrente, ao redor dos primeiros molares inferior. As 20 ratas Wistar foram divididas em quatro grupos e em três destes grupos foram colocadas ligaduras para induzir doença periodontal. O grupo controle não recebeu ligadura nem qualquer medicação ou placebo. Nos sítios testes, as ligaduras foram atadas na face vestibular e mantidas por 28 dias. Durante esta fase de indução, os animais passaram por uma verificação semanal da estabilidade da ligadura dentro do sulco gengival. Neste período, todos os animais submetidos à indução da doença periodontal e medicados, recebiam diariamente por via oral 0,14 mg de doxiciclina ou 0,42 mg de ibuprofeno, conforme descrito no Quadro 1:

Grupos (n=5)	Experimento
G C	Controle (sem medicação e sem ligadura)
G L	Sem medicação e com ligadura
G D	Com ligadura + 0,14 mg doxiciclina
G I	Com ligadura + 0,42 mg ibuprofeno

Quadro 1 - Delineamento experimental

4.4 SACRIFÍCIO

Após 28 dias transcorridos a indução, todos os animais foram anestesiados e posteriormente decapitados em guilhotina. A seguir foi removida a mandíbula, que foi fixada em formol a 10% por 48 horas.

As mandíbulas foram seccionadas em hemimandíbula direita e esquerda. Os espécimes das hemimandíbulas do lado esquerdo foram submetidos à análise radiográfica, para avaliação do suporte ósseo remanescente e análise morfológica para avaliação da perda óssea.

4.5 ANÁLISE RADIOGRÁFICA

Os espécimes foram submetidos à avaliação radiográfica digital obtida por meio do sistema de imagem computadorizado RVG® (RadioVisioGraphy-Trofhy radiology inc.-Marietta/USA) junto ao laboratório de radiologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP. O sensor foi exposto a 65 KV e 7 μ A por 0,08 s, com distância fonte-sensor de 30 cm. As imagens foram avaliadas no programa de

análise do SOP, Image Tool (UTHSCSA) (Figura 1). Foram fixados pontos para mensuração do suporte ósseo horizontal, que foram posicionados na porção mais coronária da cúspide do dente (C), na ponta da crista óssea ou local do defeito ósseo (B) e no ápice radicular (A). Estes pontos foram transportados como medidas lineares para mensuração do suporte ósseo periodontal (Figura 2). Para a quantificação do suporte ósseo periodontal (SOP) foi calculada a proporção entre AC e AB segundo a fórmula $SOP = \frac{AB \times AC}{100}$ (KLAUSEN; EVANS; SFINTESCU, 1989).

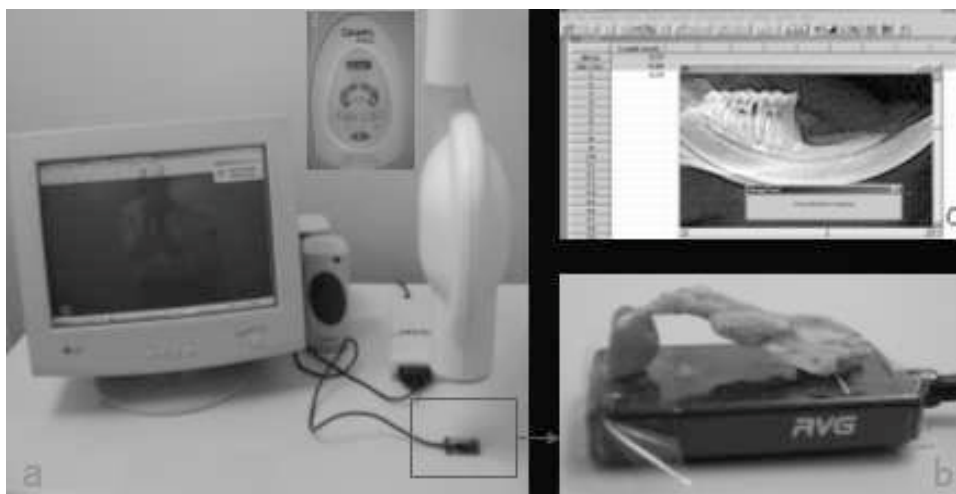


Figura 1- a) Sistema RVG® (RadioVisioGraphy-Trophy radiology inc.-Marietta/USA). b) posicionamento padronizado da mandíbula sobre o sensor do sistema. c) Programa de análise do SOP Image Tool (UTHSCSA)

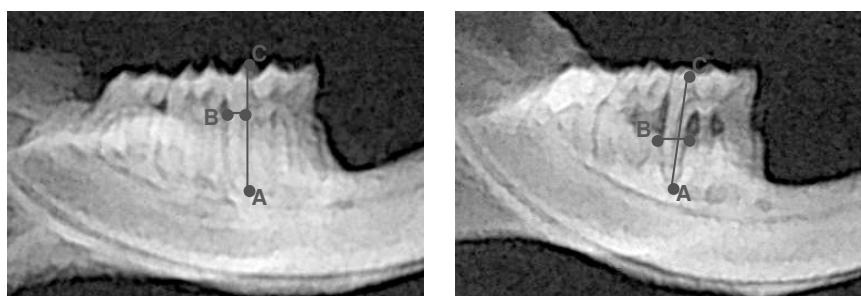


Figura 2- Pontos de referência utilizados para o cálculo do SOP

4.6 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Após a separação das hemimandíbulas, o tecido mole das peças cirúrgicas do lado esquerdo foi separado removido mecanicamente do tecido ósseo, após serem imersas em hipoclorito de sódio por três horas.

Estas peças foram coradas com violeta de genciana a 1%, para delimitar a junção esmalte-cemento em cada dente (Figura 3).

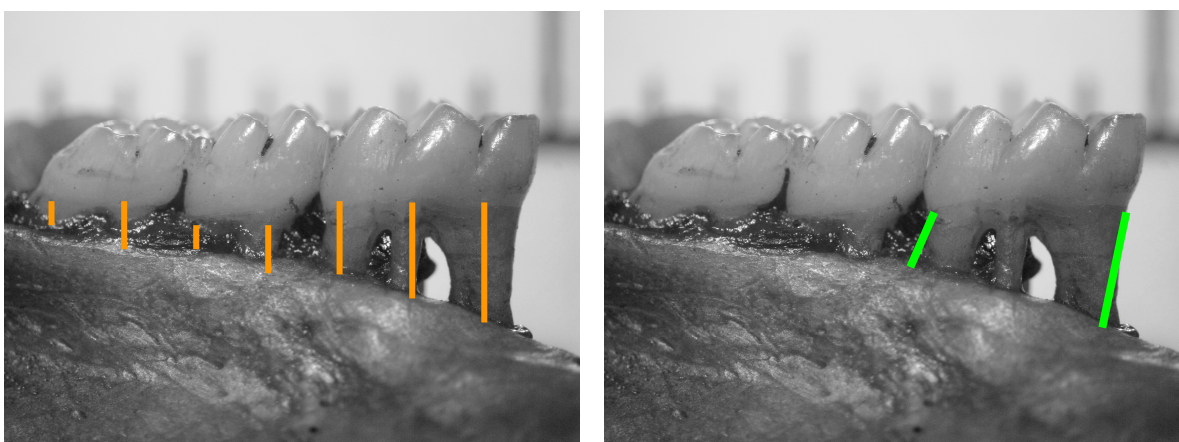


Figura 3- Mandíbulas coradas em violeta de genciana e marcadas para avaliação morfológica da distância JCE-CO para primeira e segunda avaliação

A mensuração da perda óssea periodontal, foi realizada em duas etapas. Na primeira, os pontos de referência considerados foram a junção esmalte-cimento e a crista óssea alveolar no centro da face vestibular das raízes mesial, mediana e distal do primeiro molar inferior esquerdo e nas raízes mesial e distal do segundo e terceiro molares do mesmo hemiarco. Numa segunda avaliação foram considerados apenas os pontos de referência, a distância entre JCE-CO junto aos ângulos diedros mesio-vestibulares e disto-vestibulares do primeiro molar inferior esquerdo, no qual foi instalada a ligadura. As imagens foram obtidas com uso de lupa estereoscópica (Leica) com aumento de 25 vezes, junto ao Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP. A avaliações foram realizadas

em um *software* de leitura de imagens, *Image Tool for Windows*, versão 2.0 (UTHSCSA).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados encontrados foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA). As diferenças estatísticas observadas foram submetidas ao teste de comparação múltipla de Tukey, para verificar a influência das variáveis nos resultados encontrados. Foi adotado o nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 SUPORTE ÓSSEO PERIODONTAL (SOP) NA REGIÃO DO PRIMEIRO MOLAR INFERIOR

Após a avaliação do suporte ósseo periodontal (SOP) para os diferentes grupos os resultados apresentaram valores médios que foram convertidos em dados percentuais e estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1– Medidas lineares convertidas em dados percentuais do suporte ósseo periodontal (SOP) remanescentes nos grupos experimentais

Grupos	N	Média %	Desvio Padrão
GC	6	58,09	3,189
GL	6	39,13	11,552
GD	6	48,65	4,986
GI	6	48,54	4,943

Controle (GC), Ligadura e sem tratamento (GL), Ligadura + doxicilina (GD), Ligadura + ibuprofeno (GI)

N = número de animais

Os dados de SOP encontrados foram comparados por meio da análise de variância (ANOVA) e mostraram a ocorrência de diferença estatística significativa ($p= 0,002$) (Tabela 2) e após a comparação múltipla de Tukey, foram observados quais grupos diferiam entre si (Tabela 3). Nota-se que o grupo GL apresentou menor SOP que GC ($p=0,001$) e que GD e GI foram equivalente entre si ($p=1,00$) e equivalentes à GD e GL (Tabela 5).

Tabela 2 - Resultados da ANOVA, referente aos dados do SOP intergrupos

Grupos	Média \pm desvio padrão (%)
GC	58,09 \pm 3,18
GL	39,13 \pm 11,55
GD	48,65 \pm 4,98
GI	48,54 \pm 4,94
<i>p</i>	0,002*

* $p < 0,05$ Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI)

Tabela 3 - Resultados da Comparação Múltipla de Tukey para a localização das diferenças entre os grupos para o suporte ósseo periodontal (SOP)

Grupos	(p)
(GC)	(GL) 0,001*
	(GD) 0,119
	(GI) 0,113
(GL)	(GD) 0,115
	(GI) 0,120
(GD)	(GI) 1,000

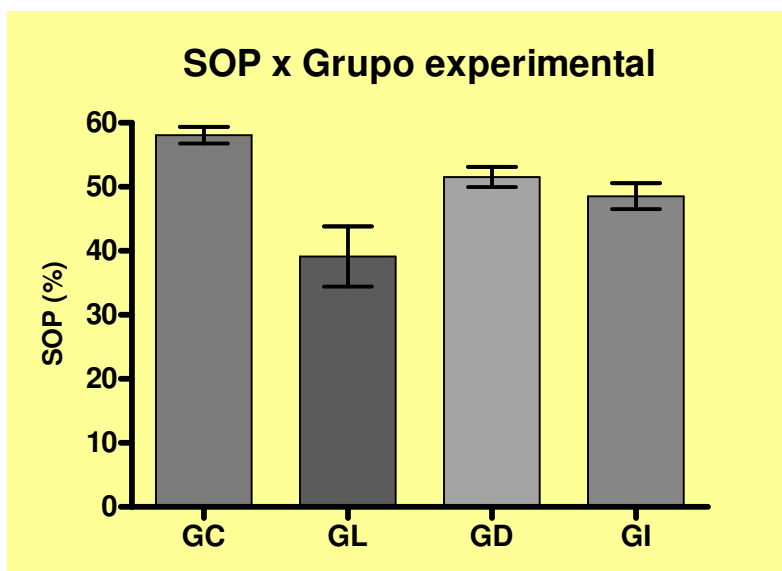
* $p < 0,05$ Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI)

Tabela 4 - Representação em ordem decrescente de médias encontradas no suporte ósseo periodontal (SOP) constituindo grupos homogêneos

Grupos	Média \pm DP (%)	Grupos Homogêneos*
GC	58,09 \pm 3,18	A
GD	48,65 \pm 4,98	A B
GI	48,54 \pm 4,94	A B
GL	39,13 \pm 11,55	B

*Letras iguais representam ausência de diferença estatística significativa Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI)

Os valores de SOP do gráfico apresentado na Figura 4 representam o osso alveolar remanescente do GC e a sua redução após a instalação da ligadura, bem como, nos animais tratados com dose subantimicrobiana de doxiciclina ou



ibuprofeno.

Figura 4 – Comparação do SOP entre os grupos

5.2 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR NA REGIÃO DO PRIMEIRO MOLAR INFERIOR

A distância entre a junção cimento-esmalte (JCE) até a crista óssea (CO) foi mensurada considerando primeiramente o primeiro molar inferior esquerdo (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores médios referente à distância JCE-CO no primeiro molar inferior

Grupos	N	Média (mm)	Desvio Padrão
GC	5	0,7536	0,06173
GL	5	1,0542	0,27516
GD	5	1,0480	0,10803
GI	5	0,8971	0,06674

Controle (GC), Ligadura e sem tratamento (GL), Ligadura + doxiciclina (GD), Ligadura+ ibuprofeno (GI)

Os valores médios foram submetidos à análise de variância e apresentaram diferença estatística significativa ($p=0,021$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Dados encontrados na análise intergrupos, submetidos ao Teste ANOVA

Grupos	Média ± desvio padrão (%)
GC	0,7536 ± 0,06173
GL	1,0542 ± 0,27516
GD	1,0480 ± 0,10803
GI	0,8971 ± 0,06674
<i>p</i>	0,021*

Controle (GC), Ligadura e sem tratamento (GL), Ligadura + doxicilina (GD), Ligadura + ibuprofeno (GI)

Tabela 7 - Resultados da Comparação Múltipla de Tukey para a localização das diferenças entre os grupos para a distância da JCE-CO considerando o primeiro molar inferior

Grupos	<i>P</i>
(GC) (GL)	0,033*
(GC) (GD)	0,037*
(GC) (GI)	0,478
(GL) (GD)	1,000
(GL) (GI)	0,403
(GD) (GI)	0,437

* $p<0,05$, Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI), junção esmalte-cimento (JCE-CO)

Na identificação das diferenças (Tabela 7), pode-se observar que os valores médios para a distância JCE-CO mostraram que o grupo GI foi equivalente aos grupos GL, GD, e GC. Por outro lado, observou-se que GL e GD foram diferentes de GC (Tabela 8).

Tabela 8 - Representação em ordem decrescente das médias encontradas para a distância JCE-CO (mm) nas raízes do 1ºPMIE constituindo grupos homogêneos

Grupos	Média ± DP	Grupos Homogêneos*
GL	1,0542 ±0,27516	A
GD	1.0480 ±0,10803	A
GI	0,8971 ±0,06674	A B
GC	0,7536 ±0,06173	B

*Letras iguais representam ausência de diferença estatística significativa; Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI)

Os valores plotados no gráfico apresentado na Figura 5 representam a distância entre JCE-CO, que se apresentaram aumentadas no grupo GL em relação ao GC. Tais alterações se mostraram praticamente iguais quando tratados com dose subantimicrobiana de doxiciclina e pouco reduzidas quando tratados com ibuprofeno.

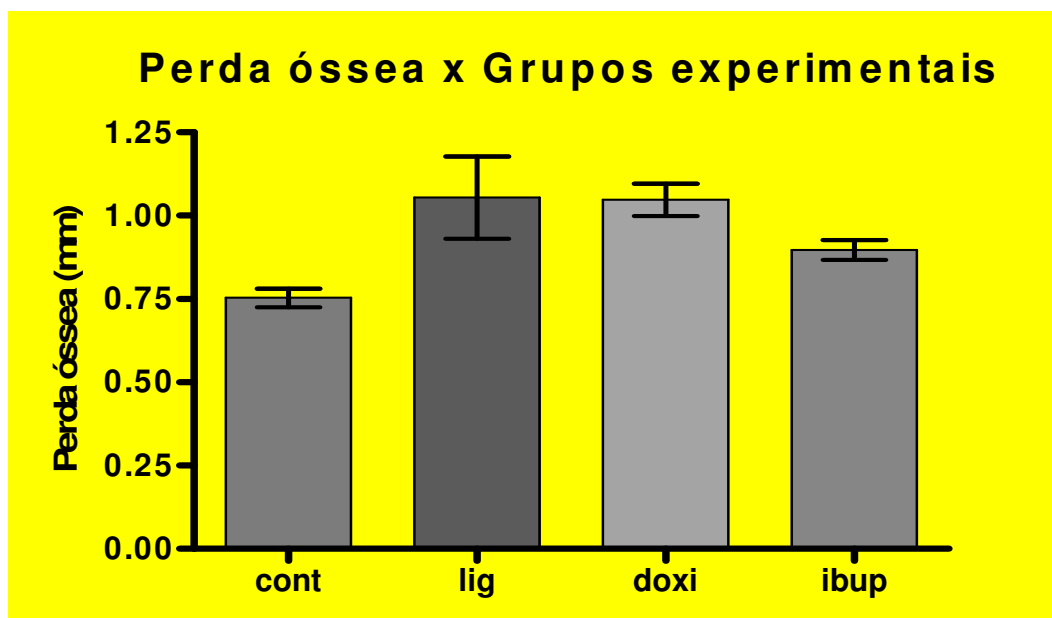


Figura 5 - Comparação da distância JCE-CO entre os grupos na região do primeiro molar

5.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA DISTÂNCIA JCE-CO DO HEMIARCO ENVOLVIDO

Na avaliação do hemiarco envolvido, os valores de distância JCE-CO de todos os dentes compuseram um valor médio, expresso em milímetros, representando cada animal e depois cada grupo (Tabela 9).

Tabela 9 - Dados referente às mensurações da Junção Cimento Esmalte JCE-CO no hemiarco da região diretamente envolvida

Grupos	N	Média(mm)	Desvio Padrão
GC	5	1,2110	0,17774
GL	5	1,4530	0,26023
GD	5	1,4560	0,17501
GI	5	1,6610	0,24152

$p < 0,05$, Controle (GC), Ligadura e sem tratamento (GL), ligadura + doxiciclina (GD), Ligadura + ibuprofeno (GI), N = número de amostra

Os valores obtidos para o hemiarco e submetidos à ANOVA com diferença estatística entre os grupos experimentais ($p=0,037$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Resultados da comparação entre as médias para análise intergrupos, considerando o hemiarco da região diretamente envolvido

Grupos	Média ± desvio padrão
GC	1,2110 ± 0,17774
GL	1,4530 ± 0,26023
GD	1,4560 ± 0,17501
GI	1,6610 ± 0,24152
P	0,037*

$p < 0,05$; Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura+doxi (GD), ligadura+ ibuprof. (GI)

Tabela 11 - Comparação múltipla dos dados descritivos para a localização das diferenças entre os grupos para a distância da JCE-CO considerando o hemiarco da região diretamente envolvida

Grupos		<i>P</i>
(GC)	(GL)	0,326
	(GD)	0,316
	(GI)	0,022*
(GL)	(GD)	1,000
	(GI)	0,451
(GD)	(GI)	0,464

* $p < 0,05$ Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI)

Quando foi analisado o valor médio das diferentes mensurações entre os grupos no hemiarco experimental envolvido e submetido ao teste Tukey, foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p < 0,022$) entre os grupos controle (GC) com grupo ligadura e tratado com ibuprofeno (GI).

Tabela 12 - Representação em ordem decrescente das médias encontradas para a distância da JCE-CO (mm) no hemiarco da região diretamente envolvida constituindo grupos homogêneos

Grupos	Média \pm DP	Grupos Homogêneos*	
GI	1,6610 \pm 0,24152	A	
GD	1,4560 \pm 0,17501	A	B
GL	1,4530 \pm 0,26023	A	B
GC	1,2110 \pm 0,17774		B

*Letras iguais representam ausência de diferença estatística significativa; Controle (GC), ligadura sem tratamento (GL), ligadura +doxi (GD), ligadura + ibuprofeno (GI)

Os valores de distância JCE-CO observados na região diretamente envolvida pela ligadura mostraram-se aumentados em todos os grupos em relação ao controle.

Nos animais tratados com dose subantimicrobiana de doxiciclina os valores foram praticamente iguais aos animais sem tratamento e menores que os animais tratados com ibuprofeno, os quais apresentaram as maiores distâncias.

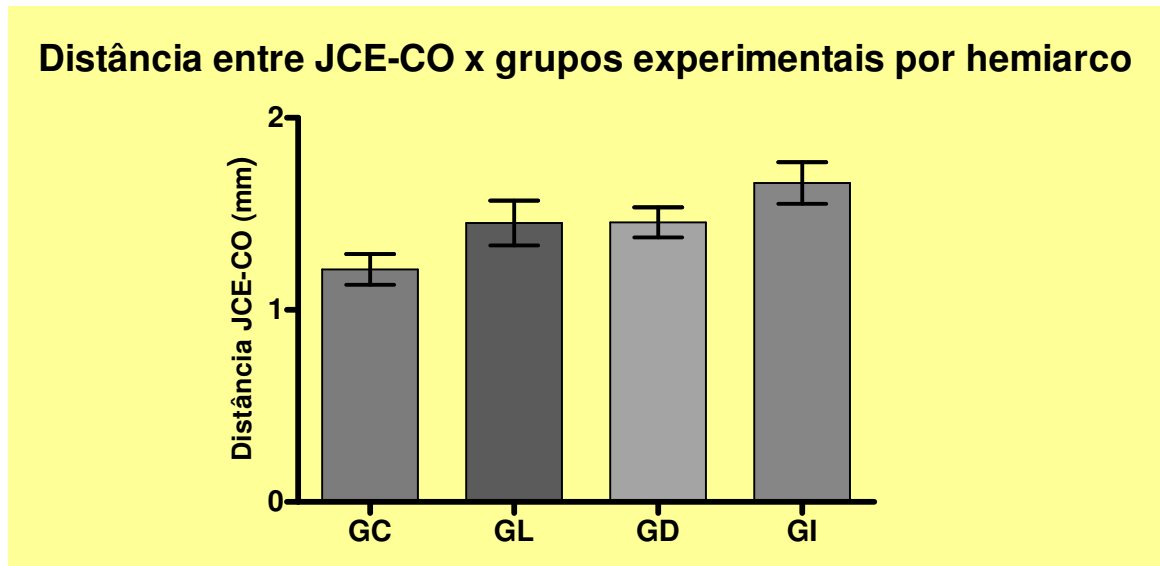


Figura 6 - Comparação da distância JCE-CO entre os grupos no hemiarco associado à região diretamente envolvida

DISCUSSÃO

A doença periodontal é uma condição inflamatória crônica caracterizada por períodos agudos de degradação tecidual que ocorre em resposta à agressão bacteriana e à susceptibilidade do hospedeiro a este agente agressor (OFFENBACHER, 1996). A literatura relata que os efeitos de dose subantimicrobiana de doxiciclina estão relacionados à sua capacidade de modular a resposta do hospedeiro. Isto ocorre devido à ação modulatória deste medicamento em relação à resposta do hospedeiro na produção de enzimas e na migração de células do infiltrado inflamatório para o local da injúria (GREVSTAD; BOE, 1995). Diante do exposto, a proposta desse trabalho foi verificar a influência do uso de dose subantimicrobiana de doxiciclina e do antiinflamatório não esteroideal, ibuprofeno, sobre a perda óssea alveolar em periodontite induzida em ratas.

O suporte ósseo alveolar bem como a distância entre a crista óssea e a junção cimento esmalte são referenciais anatomo-fisiológicos importantes para o estudo do comportamento dos tecidos periodontais frente aos eventos histopatológicos da doença periodontal. A avaliação destes referenciais foi utilizada neste estudo por ser considerada como uma ferramenta adequada para a análise da ação destrutiva da doença periodontal induzida por ligaduras na região do periodonto de ratos. Como foi observado na apresentação dos resultados, a avaliação radiográfica do SOP e a avaliação morfométrica da distância entre JCE-CO permitiram a mensuração destas alterações de modo que se caracterizasse o comportamento destes referenciais em cada grupo experimental (KLAUSEN; EVANS; SFINTESC, 1989; KURH et al., 2004).

A periodontite induzida neste estudo em ratas mostrou, através da avaliação das medidas lineares convertidas em percentuais do SOP, que a ligadura induziu perda óssea nos animais estudados. Este resultado também foi observado na avaliação morfométrica. Da mesma forma, Sallay et al. (1982) observaram em seus estudos que, após a instalação da ligadura ao redor do segundo molar superior por um período de nove a 14 dias, ocorreu formação de um seqüestro da margem óssea e esse seqüestro foi facilmente removido. Na superfície do osso alveolar pela face vestibular ao redor da área envolvida apresentou rugosidades as quais puderam ser removidas com instrumentação manual. Já no lado palatino, observou-se destruição óssea horizontal sem seqüestro. Pesquisas realizadas por outros autores também deram suporte a estas afirmações. Klausen et al. (1989) observaram por meio de análises radiográficas, que a ligadura pode induzir a reabsorção do osso alveolar. Kurh et al. (2004) constataram que a instalação de ligaduras em redor do segundo molar superior de ratos gerou reabsorção do tecido ósseo alveolar. Sendo assim, os resultados observados neste estudo e suportados pelos achados da literatura confirmam o fato de que à partir da alteração do periodonto causada pela instalação da ligadura, é possível que se aplique alternativas terapêuticas para que seja testado neste protocolo de modelo animal.

No presente estudo os animais que receberam a ligadura e foram medicados com doxiciclina (GD) ou ibuprofeno (GI) apresentaram valores médios estatisticamente equivalentes entre si e à GC e GL tanto para a análise do SOP como para a avaliação da distância JCE-CO. Estes resultados foram contrários aos resultados de outros autores como Grevstad e Boe (1995), os quais verificaram, através da administração sistêmica da doxiciclina em ratos que este fármaco influenciava eventos celulares, retardando a colonização inicial e o subsequente recrutamento de

osteoclastos no sítio da doença após o ato cirúrgico, resultando na inibição da destruição do tecido ósseo. A influência da terapia com dose subantimicrobiana de doxiciclina sobre o nível clínico de inserção, a profundidade de bolsa e a atividade colagenase foi observada por Crout et al. (1996). Vale lembrar, que neste estudo os autores não encontraram diferenças significativas entre os grupos tratados com placebo ou com doxiciclina quando os parâmetros avaliados foram os índices de placa e gengival. Da mesma forma Karimbux et al. (1998) observaram a redução de efeitos destrutivos no periodonto por meio da inibição da síntese de colágeno na doença periodontal. Já Llavaneras et al. (2001) não observaram redução da perda óssea em seus estudos em ratos quando a doxiciclina e o bisfosfonato foram utilizados como monoterapia. Contudo, quando estes fármacos foram associados entre si, os autores observaram redução significativa na perda óssea alveolar em relação ao grupo controle. Estes estudos utilizaram ferramentas de avaliação mais sensíveis nas quais pequenas alterações puderam evidenciar o potencial modulador deste medicamento sobre os eventos histopatológicos da doença periodontal. Embora a literatura dê suporte à utilização das ferramentas adotadas no presente estudo, estas podem não ter sido suficientemente sensíveis para a identificação dos resultados esperados.

Os AINES são conhecidos por interferir no metabolismo do ácido aracdônico, atuando na cadeia ciclooxigenase, promovendo inibição dos mediadores inflamatórios, onde se inclui; a PGE2 e leucotrienos (HEASMAN et al., 1993; TAIYEB; WAITE, 1993). Entre estes fármacos, a literatura relata os efeitos benéficos do ibuprofeno inibindo a produção desses mediadores em especial as prostaglandinas (TAIYEB; WAITE, 1993). A escolha desse fármaco como controle positivo, se justifica por ser um AINES reconhecido pela suas propriedades

antiinflamatórias agindo no metabolismo do ácido aracdônico. Atua, inibindo a produção de mediadores inflamatórios reduzindo os sinais da inflamação e da perda óssea alveolar (HEASMAN et al., 1993). Heasman e Seymour (1989) verificaram que o uso sistêmico dos AINES reduz a gengivite. Entretanto, no presente estudo, os animais que foram tratados com ibuprofeno não apresentaram valores médios de SOP ou alterações nas distâncias entre JCE-CO que confirmassem seu efeito modulatório sobre a reabsorção óssea decorrente da doença periodontal induzida.

Os resultados observados no presente estudo sugerem que o mesmo protocolo possa ser utilizado com outras ferramentas de avaliação e com amostras que apresentem maior número de animais por grupo, com o objetivo de se diminuir a variabilidade e o desvio padrão gerando como conseqüência a visualização mais clara das diferenças ou equivalências entre os grupos experimentais.

7 Conclusão

Baseado nos resultados observados, pode-se concluir que a utilização de dose subantimicrobiana de doxiciclina ou de ibuprofeno não modulou a perda óssea decorrente da doença periodontal induzida por ligadura em ratas.

**ANEXO A – Cópia da aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de
Ética em**

Pesquisa Animal da Universidade de Taubaté.