



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



MARINELLA HOLZHAUSEN

Efeito do celecoxib sobre o desenvolvimento de doença periodontal induzida por ligadura em ratos

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, do Campus de Araraquara, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Odontologia – Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. *Luis Carlos Spolidório*

Co-orientador: Prof. Dr. *Elcio Marcantonio Junior*

ARARAQUARA

2001

Dados curriculares

Marinella Holzhausen

NASCIMENTO	16.12.1974 - ARARAQUARA/SP
FILIAÇÃO	Manfred Heinrich Wilhelm Holzhausen Joanina Serafini Holzhausen
1994/1997	Curso de Graduação Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
1998/1999	Curso de Especialização Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2000/2001	Curso de Pós-Graduação em Periodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Com amor,
dedico este
trabalho...

...aos meus queridos pais, **Joanina** e **Manfred**, pessoas maravilhosas, que me apoiam e incentivam incondicionalmente na realização de meus sonhos.

...ao meu noivo, **Luiz Adriano**, pelo apoio, carinho e compreensão.

...aos meus irmãos, **Manfred** e **Maximilian**, pelo carinho e amizade.

...à **Marina**, minha querida sobrinha, pelos momentos de descontração e alegria.

...às minhas cunhadas, **Ana Lúgia** e **Andréa**, pelo carinho e companheirismo.

Agradeço especialmente...

...ao Prof. Dr. Luis Carlos Spolidório, meu orientador, pela amizade e respeito e, pela competência e disposição com que me orientou durante a realização desta dissertação.

...ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio Jr., meu co-orientador pela amizade, confiança e, principalmente, pela orientação, incentivo e apoio na realização de vários projetos, desde a época de minha graduação.

...aos docentes do curso de Periodontia, Prof. Dr. Benedicto Egbert Corrêa de Toledo, Prof. Dr. Carlos Rossa Jr., Prof. Dr. Elcio Marcantonio Jr., Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached, Prof. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio e, a Prof. Dra. Silvana Regina Perez Orrico, pela amizade, formação profissional e pelos exemplos de competência e sucesso.

Agradecimentos...

...à Faculdade de Odontologia de Araraquara , nas pessoas de seu Diretor, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached e, Vice-Diretor, Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard.

...à Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, pela competência, dedicação e responsabilidade com que coordena o Curso de Pós-Graduação na Área de Periodontia.

...aos amigos do curso de Pós-Graduação em Periodontia, Ana Carolina, Celso, Cliciane, Cristiane, Esmeralda, José Marcos, Karina, Luís Henrique, Rodrigo e Rogério, pelo convívio agradável e enriquecedor.

...às funcionárias da Disciplina de Periodontia, D^a. Maria do Rosário, D^a. Teresinha, Maria José e Fernanda, pela amizade, carinho e respeito que sempre me dispensaram.

...à Regina Lúcia, pela paciência e amizade sempre disponíveis.

...à Ana Cláudia, pela amizade e, principalmente, pela paciência e carinho na confecção das lâminas deste trabalho.

...à FAPESP, pelo auxílio financeiro, que possibilitou a realização deste projeto.

...à Monsanto do Brasil S. A., por ter fornecido o celecoxib.

...à **Patrícia Oehlmeyer Nassar**, pela ajuda na realização da parte prática deste trabalho.

...aos professores, Prof. Dr. **Carlos Rossa Jr.**, da Disciplina de Periodontia de Araraquara e, Prof. Dr. **José Sílvio Govone**, do Depto. de Estatística Matemática Aplicada e Computação, UNESP- Rio Claro, pela valiosa ajuda e, competência, na realização da análise estatística deste trabalho.

...aos funcionários da Disciplina de Patologia, em especial, ao **José Antonio**, que me ajudou na realização das fotografias macroscópicas deste trabalho.

...aos amigos docentes da Disciplina de Fisiologia, Prof. Dr. **WilsonAbraão Saad**, por ter me orientado na realização de meus primeiros passos em pesquisa científica e, Prof. Dr. **Laurival**, pelas orientações quanto ao manuseio e armazenamento dos ratos.

...a todos os funcionários do Biotério do Câmpus.

...à disciplina de Radiologia, especialmente à Profa. Dra. **Gulnara** e, à **Edineide**, pela orientação na realização das radiografias deste trabalho.

...a todos os funcionários do Depto. de Diagnóstico e Cirurgia, em especial à **Telma, Sueli e Toninho**.

...a todos os funcionários da Biblioteca, especialmente à **Maria José**, pela colaboração quanto a revisão deste texto.

...a todos os funcionários da Secção de Pós-Graduação, pela colaboração dedicada ao curso.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Doença periodontal induzida por ligadura em ratos	10
2.2. Metabólitos do ácido araquidônico e sua relação com a doença periodontal	14
2.3. Efeito das drogas antiinflamatórias não-esteróides sobre a doença periodontal	19
2.4 Celecoxib	54
3. PROPOSIÇÃO	60
4. MATERIAL E MÉTODO	61
4.1. Animais	61
4.2. Anestesia	61
4.3. Indução da doença periodontal	62
4.4. Celecoxib	65
4.5. Grupos experimentais	65
4.6. Períodos experimentais	66
4.7. Análise macroscópica	66
4.8. Análise radiográfica	67
4.9. Análise microscópica	69
4.10. Análise estatística	70
5. RESULTADO	71
6. DISCUSSÃO	98
7. CONCLUSÃO	108
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
9. RESUMO	121
10. ABSTRACT	123

1. Introdução

Em uma resposta inflamatória, o ácido araquidônico (AA) presente na membrana de células inflamatórias e fibroblastos, pode ser metabolizado pela ação da enzima cicloxigenase (COX) ou pela ação da enzima lipoxigenase (LOX)²⁸, resultando na formação de prostaglandina E₂ (PGE₂) e outros metabólitos, os quais exercem um reconhecido papel na patogênese da doença periodontal.⁹ Vários estudos experimentais, em animais e em humanos, têm demonstrado que o uso de drogas antiinflamatórias não-esteróides (AINEs), inibidoras da enzima cicloxigenase^{28,70}, pode levar a redução da reabsorção óssea alveolar.^{8,15,59,62,78,84}

Atualmente, sabe-se que a enzima COX pode apresentar-se sob duas isoformas distintas, a COX-1 e a COX-2. A COX-1 é a enzima responsável pela produção local e sistêmica de prostaglandinas fisiologicamente importantes, envolvidas na homeostasia dos tecidos, tais como do trato gastrointestinal e rins. Já a COX-2, induzida pela ação de citocinas inflamatórias e endotoxinas, é a enzima responsável pela liberação de grandes quantidades de prostaglandinas em condições inflamatórias⁷¹. A descoberta da COX-2 levou ao desenvolvimento de inibidores seletivos da COX-2 os quais têm sido utilizados, com menores efeitos colaterais, no tratamento de processos inflamatórios crônicos, tais como a osteoartrite e a artrite reumatóide.⁴⁵

Como em tecidos gengivais inflamados, ocorre uma alta expressão da enzima COX-2 e, a inibição específica dessa enzima pode levar ao bloqueio da produção de PGE₂ "*in vitro*",⁴⁸ objetivou-se no presente trabalho, avaliar os efeitos da inibição específica da COX-2, com o celecoxib, sobre o desenvolvimento de doença periodontal experimentalmente induzida em ratos.

2.Revisão da literatura

2.1 - Doença periodontal induzida por ligadura em ratos

A utilização de modelos animais na elucidação da patogênese da doença periodontal explica-se pela grande dificuldade de estudar a doença periodontal em humanos. Há centenas de espécies bacterianas na placa subgingival do periodonto humano e, a destruição tecidual proveniente das respostas imunoinflamatórias do hospedeiro frente a esta complexa microflora, é estudada, quase sempre, de maneira retrospectiva. Além disso, ao contrário de outras doenças infecciosas, que não existem em outras espécies além do homem, a doença periodontal é bem difundida no reino animal. Devido a semelhança com o homem, os primatas são o melhor modelo animal. Contudo, o rato (*Rattus norvegicus*) é o animal mais freqüentemente utilizado em estudos de periodontite experimental pois, comparado aos primatas, os ratos são mais baratos e fáceis de manipular (Klausen,³⁹ 1991).

Ainda, de acordo com Page & Schroeder,⁶⁰ 1982, o rato possui um incisivo e três molares em cada quadrante. Os incisivos de ratos são dentes em contínuo crescimento e, portanto, desfavoráveis como modelo de doença periodontal. Por outro lado, a estrutura e organização dos tecidos periodontais dos molares de ratos- epitélio gengival oral, epitélio gengival sulcular, epitélio juncional, fibras periodontais colágenas, cemento, e osso alveolar - são muito semelhantes aos humanos. A única grande diferença é que o epitélio sulcular do

rato é queratinizado. Teoricamente, esta estrutura tecidual poderia interferir com a migração de metabólitos bacterianos para o tecido conjuntivo, desse modo impedindo o início de uma resposta inflamatória. Contudo, estudos demonstraram que quando inseriu-se material no sulco gengival de ratos, o mesmo penetrou no tecido conjuntivo via epitélio juncional (Romanowski et al.,⁶⁷ 1988; Takata et al.,⁷⁶ 1988). Deste modo, não há motivos para acreditar que a função de barreira, exercida pela gengiva, seja diferente em ratos, embora a extensão da área afetada possa ser maior nos humanos.

Ratos com 5 semanas de vida possuem todos os molares erupcionados. No entanto, esses molares sofrem, com a idade, uma erupção passiva e migração para distal, decorrentes da atrição das superfícies oclusais. Juntamente com essa migração dos dentes, ocorre contínua remodelação do osso alveolar. Desse modo, a distância entre a junção cimento-esmalte (J.C.E.) e a crista óssea alveolar permanece constante em superfícies vestibulares em ratos sem doença periodontal, enquanto que em superfícies linguais ou palatinas, pode ser observado um aumento fisiológico dependente da idade. (Klausen,³⁹ 1991).

A utilização do modelo de doença periodontal induzida por ligadura consiste na colocação de um fio de nylon, de seda ou de algodão ao redor da cervical de um dente molar. Utilizando esse modelo de doença periodontal, Johnson,³⁶ 1975, observou achatamento e deslocamento da margem gengival, acúmulo de placa bacteriana, aumento da proliferação de infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo subjacente, migração do epitélio juncional e reabsorção da

crista óssea alveolar mesial, verificada através de análise radiográfica, 17 dias após a colocação de ligaduras em primeiros molares inferiores de ratos.

Sallay et al.,⁶⁹ 1982, mostraram que 9 a 14 dias após a colocação de ligadura, foi possível observar histologicamente, destruição óssea alveolar horizontal, seqüestro ósseo e leucocitose na corrente sanguínea periférica.

Já, Bezerra et al.,⁵ 2000, observaram, em análise macroscópica, que uma perda óssea alveolar significativa pode ser encontrada logo após 4 dias da colocação de ligadura, alcançando um pico máximo aos 7 dias, quando além de uma reabsorção óssea severa, puderam ser observados, histopatologicamente, um infiltrado inflamatório progressivo e um aumento do número de osteoclastos.

Nociti Jr. et al.,⁵¹ 2000, observaram, clinicamente, sinais de inflamação gengival em primeiros molares inferiores de ratos 30 dias após a colocação de ligadura de algodão. No entanto, não encontraram, em análise histométrica, diferenças significativas quanto a perda óssea encontrada na região de furca de primeiros molares inferiores de dentes com ligadura, em relação a perda óssea em dentes não submetidos à colocação de ligadura.

O papel da ligadura no modelo de doença periodontal experimental tem sido muito questionado. Sabe-se que a colocação de ligadura leva invariavelmente a uma injúria traumática e, que apenas secundariamente, age como fator retentivo de placa bacteriana (Nyman et al.,⁵² 1979) No entanto, existe a alegação de que o caráter traumático da colocação da mesma seria fator preponderante na produção de destruição do tecido periodontal.

Com o objetivo de estudar essa questão, Rovin et al.,⁶⁸ 1966, verificaram que o uso de ligaduras de seda em primeiros molares inferiores de ratos livres de germes não apresentaram nenhuma evidência de resposta inflamatória. Com o mesmo intuito, Sallay et al.,⁶⁹ 1982 avaliaram a possibilidade da destruição periodontal, decorrente da colocação de ligadura ao redor de dentes segundos molares superiores, ser decorrente do trauma mecânico e não da presença de bactérias. Dessa forma, administraram antibióticos (gentamicina, clindamicina e tetraciclina) previamente a colocação de ligadura e, clorexidina uma vez ao dia para o controle de placa. Como resultado, observaram inibição da perda óssea alveolar, demonstrando o caráter infeccioso da periodontite experimental.

Dessa forma, observa-se que a doença periodontal induzida por ligadura em ratos assemelha-se ao processo que ocorre em humanos. A destruição do tecido periodontal, em ratos e humanos, decorre das respostas do hospedeiro frente à presença de bactérias periodontopatogênicas.

2.2 - Metabólitos do ácido araquidônico e sua relação com a doença periodontal

Os metabólitos do AA são uma variedade de compostos enzimaticamente produzidos e liberados em resposta a uma injúria tecidual local. O processo tem início com a liberação do AA, presente nos fosfolípídeos da membrana celular, pela ação da fosfolipase A₂. Com sua liberação, o AA pode então ser metabolizado pela ação de duas enzimas distintas: a cicloxigenase (COX) ou a lipoxigenase (LOX). Quando o AA é enzimaticamente oxidado pela COX, forma intermediários cicloendoperoxidase instáveis (PGG₂ e PGH₂) levando à síntese dos prostanóides: prostaglandinas (PG), prostaciclina, e tromboxanas (TXB). Pela ação da lipoxigenase, o AA forma os leucotrienos (LTB) e outros ácidos hidroieicosatetraenoicos (HETE). Em uma resposta inflamatória, a principal fonte de metabólitos do AA, é a população de células locais: os neutrófilos, monócitos e macrófagos (Heasman,²⁵ 1988).

De uma maneira geral, os metabólitos do AA parecem exercer dois papéis distintos na inflamação. Primeiro, eles promovem seu desenvolvimento, estando associados com a presença de agregação plaquetária, vasodilatação, vasoconstrição, quimiotaxia de neutrófilos, aumento da permeabilidade vascular e reabsorção óssea. Secundariamente, eles podem modular e regular a função das células inflamatórias. As prostaglandinas, por exemplo, podem inibir a liberação de enzimas lisossomais de leucócitos

polimorfonucleares, a proliferação clonal de macrófagos e também a migração de macrófagos maduros. Efeitos estimulatórios incluem o aumento da fagocitose, aumento de número de receptores de anticorpos na superfície das células e aumento da reabsorção óssea, pela ação das prostaglandinas facilitando a liberação de um fator ativador de osteoclastos pelos linfócitos (Howell,²⁹ 1988).

Colaborando com as investigações sobre a farmacodinâmica dos metabólitos do AA, pesquisadores na área de periodontia, buscaram correlacionar os níveis de metabólitos do AA, presentes nos tecidos periodontais e no fluido crevicular gengival, com a expressão clínica da doença periodontal.

Uma das primeiras observações sobre a presença de PGE₂ no fluido crevicular gengival, foi realizada por Offenbacher et al.,⁵⁴ 1981. Estes autores compararam os níveis de PGE₂ presentes em 54 amostras de fluido do sulco gengival de 12 pacientes com doença periodontal. Sítios de pacientes com periodontite (selecionados com base em evidências clínicas e radiográficas de destruição periodontal) apresentaram uma média significativamente mais alta de concentração de PGE₂ do que os pacientes com gengivite (179.5 ± 51.4 pg/ μ l vs 32.1 ± 15.5 pg/ μ l, média \pm desvio padrão). Níveis de PGE₂ maior do que 100 pg/ μ l apresentaram uma associação positiva com a presença de eritema gengival e dor a sondagem. Além disso, em sítios periodontais saudáveis, encontrou-se um nível muito baixo ou não detectável de PGE₂ no fluido do sulco gengival.

Um outro metabólito do AA, a TXB₂, foi medido por meio de radioimunoensaio, por Rifkin et al.,⁶⁶ 1981, em tecidos de gengiva obtidos de cães

beagles clinicamente normais e de cães com gengivite e periodontite. Os tecidos de animais com gengivite continham níveis de TXB_2 aproximadamente duas vezes maior do que em gengivas clinicamente normais, enquanto que animais com periodontite apresentaram níveis 3 vezes e meio maiores de TXB_2 do que em gengiva clinicamente normal e duas vezes maior do que em animais com gengivite.

Da mesma forma, Dewhirst et al.,⁸ 1983, avaliaram através de radioimunoensaio os níveis de PGE_2 , TXB_2 , e prostaciclina em 33 amostras de tecidos periodontais obtidas de 8 pacientes (29 a 48 anos) que apresentavam mais de uma bolsa periodontal com profundidade maior do que 5mm, a qual apresentava indicação de tratamento cirúrgico. Os tecidos das bolsas periodontais foram separados em amostras superficiais (n=8) e profundas (n=22). Amostras de gengiva não inflamada (n=3) foram obtidas através de procedimento de cunha distal em áreas sem sinal clínico de doença periodontal. A maioria das amostras retiradas de sítios profundos (73%) apresentaram nível médio alto de 122pg/mg de PGE_2 . A metade dessas amostras também possuía níveis detectáveis de TXB_2 os quais correlacionaram-se positivamente com os níveis de PGE_2 . A metade das amostras gengivais superficiais apresentou níveis detectáveis de PGE_2 , e nenhuma apresentou níveis detectáveis de TXB_2 . A prostaciclina foi encontrada em todas as amostras inclusive nas de tecido não inflamado. Nem a PGE_2 , nem a TXB_2 foram encontradas em tecido não inflamado.

A presença de PGE₂, no fluido crevicular de pacientes com periodontite crônica ou agressiva, foi verificada por Offenbacher et al.,⁵⁵ 1984, Esses autores verificaram por radioimunoensaio os níveis de prostaglandina E₂ presentes em amostras de fluido do sulco gengival obtidas de bolsas periodontais e os níveis nos tecidos subjacentes em lesões de 12 pacientes com periodontite agressiva e de 17 com periodontite crônica. Observaram associação entre aumento no nível de prostaglandina e aumento da severidade da doença, determinada pela perda de inserção média. A média do nível de PGE₂ em pacientes com periodontite agressiva foi três vezes maior do que a presente em pacientes com periodontite crônica (144.0 ± 28.0 ng/ml vs. 57.5 ± 8.7 ng/ml, média ± desvio padrão, P = 0.002). Uma alta correlação entre os níveis de prostaglandina E₂ nos tecidos e nos níveis liberados no fluido do sulco gengival também foi encontrada.

Em trabalho subsequente, Offenbacher et al.,⁵⁸ 1986, monitoraram o nível de PGE₂ do fluido do sulco gengival e o nível de inserção clínico de toda a boca a cada 3 meses em 41 pacientes com periodontite crônica, por um período de até 3 anos. Os autores observaram que os níveis de PGE₂ apresentavam-se mais elevados em sítios com episódios de perda de inserção clínica em comparação aos sítios contralaterais controle sem perda de inserção (305.6 ± 56.5 vs. 65.7 ± 6.89 ng/ml, média ± desvio padrão). Um mês após o tratamento foi observada uma queda de 16.9 ± 3.4 ng/ml no nível de PGE₂ do sulco gengival nesses sítios com perda de inserção. Além disso, pacientes que apresentavam perda óssea possuíam um nível de PGE₂ de 113.4 ± 9.0 ng/ml 6

meses antes de um episódio de perda de inserção, o qual foi significativamente maior do que o nível de PGE_2 de pacientes que não apresentaram perda de inserção (50.1 ± 7.1). A análise estatística dos dados demonstrou uma sensibilidade de 76% com um falso positivo de 4,2% e especificidade de 96% com um falso negativo de 24%. O valor do teste de avaliação do nível de prostaglandina E_2 como preditor de perda de inserção foi de 92%.

A presença dos metabólitos do AA em pacientes com doença periodontal não restringe-se ao tecido periodontal, como demonstrado por Leibur et al.,⁴³ em 1999. Os autores determinaram os níveis sanguíneos de PGE_2 presente no plasma sanguíneo venoso (PSV), no plasma sanguíneo gengival (PSG) e no fluido do sulco gengival (FC) de sítios periodontais com profundidade de sondagem $\geq 5\text{mm}$, de 12 pacientes com doença periodontal avançada, antes e após o tratamento cirúrgico, comparando-os com os níveis de PGE_2 obtidos de 7 pacientes saudáveis (controle). Os parâmetros: índice de placa, índice gengival, índice de sangramento, profundidade de sondagem, perda de inserção e % de altura óssea radiográfica, foram anotados antes e após o tratamento. Antes do tratamento a média de níveis de PGE_2 presente no PSV, PSG e no FC de pacientes com periodontite foi mais alta do que os controles ($p < 0.001$, teste-t). Seis meses após o tratamento a média dos níveis de PGE_2 no PSV, PSG e no FC apresentou-se significativamente reduzida nos pacientes com melhora dos parâmetros clínicos e radiográficos ($p < 0.001$, teste-t).

Há, dessa forma, fortes evidências implicando os produtos do metabolismo do AA na patogênese da gengivite e da periodontite, sendo a PGE₂, segundo a maioria dos autores, o mediador mais importante da progressão da doença periodontal.

2.3 - Efeito das drogas antiinflamatórias não-esteróides sobre a doença periodontal

Os antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) são ácidos orgânicos fracos que representam um grupo heterogêneo de compostos inibidores seletivos da cicloxigenase (COX). A inibição da COX e, portanto, a prevenção da formação de prostaglandinas, tromboxanas e prostaciclina (Drisko,⁹ 1996; Salvi et al.,⁷⁰ 1997), explica as ações terapêuticas dos AINEs contra a febre, hiperalgesia e inflamação (Heasman,²² 1988).

Os efeitos colaterais dos AINEs podem ser explicados de maneira similar, pois os metabólitos com ação citoprotetora sobre a mucosa gástrica e, aqueles responsáveis pelo aumento do fluxo sanguíneo renal, também podem ser inibidos com a ação dos AINEs. Além disso, os AINEs inibem a síntese da tromboxana A₂, que é responsável pela agregação plaquetária. Desta forma, a gastrotoxicidade, nefrotoxicidade e os efeitos anti-trombose que acompanham o uso crônico dos AINEs são, sem dúvida devidos à inibição da COX (Simon et al.,⁷³ 1998).

Partindo da hipótese de que os metabólitos do AA também podem exercer um importante papel na patogênese da doença periodontal, inúmeros estudos foram desenvolvidos para avaliar o efeito dos AINEs sobre a doença periodontal. A seguir, serão apresentados alguns estudos sobre os efeitos da utilização de AINEs sobre a doença periodontal em animais (Tabela 1) e, em humanos (Tabela 2).

2.3.1 – Estudos com animais

A eficácia da indometacina sobre a supressão da inflamação gengival e reabsorção óssea alveolar foi estudada em um modelo de periodontite induzida por ligadura em beagles, por Nyman et al.,⁵² em 1979. Os resultados desse trabalho clássico demonstraram que a indometacina interferiu com a resposta à colocação da ligadura e atrasou o início e suprimiu a magnitude da reação inflamatória aguda e, também reduziu a quantidade de reabsorção óssea alveolar durante o período em estudo.

Os efeitos da indometacina sobre a destruição óssea na doença periodontal foram comparados aos efeitos da calcitonina, um hormônio inibidor da reabsorção osteoclástica, por Lasfargues & Saffar,⁴² 1983. Os autores avaliaram radiograficamente, em dois experimentos diferentes, o efeito da indometacina (2mg/kg) administrada diariamente por intubação gástrica, sobre a destruição óssea ocorrida em hamsters durante periodontite experimental induzida por dieta promotora de acúmulo de placa bacteriana. No experimento denominado

curativo, 25 hamsters receberam indometacina 45 dias após a indução da doença periodontal. Nesse grupo, a perda óssea, medida macroscopicamente, foi minimizada em 28% porém, não foi estatisticamente significativa. Ainda, o número de osteoclastos por mm foi 55% menor do que os animais não tratados. No experimento preventivo, 33 ratos tratados com indometacina do dia 0 ao 45^o dia, apresentaram uma diminuição da perda óssea alveolar, mas essa diminuição não foi estatisticamente significativa. Segundo os autores, a indometacina parece ter demonstrado um efeito inibidor sobre a reabsorção óssea. No entanto, devido às limitações do experimento, não foi possível determinar se este efeito foi mediado por uma possível ação sobre a síntese de PGs.

Em 1984, Williams et al.,⁸⁰ em Harvard (Boston, EUA) estudaram o efeito de um potente inibidor da COX, o flurbiprofem (0,02mg/kg), sobre a perda óssea alveolar ocorrida em decorrência da doença periodontal de progressão natural em 12 cães beagles, por um período de um ano. A progressão da perda óssea foi avaliada em cada superfície radicular, a cada 3 meses, através de radiografias padronizadas digitalizadas. Os autores encontraram que o antiinflamatório flurbiprofem, administrado diariamente é um potente inibidor da perda óssea alveolar da doença periodontal de ocorrência natural em beagles. Enquanto a taxa de perda óssea alveolar aumentou em cães não tratados com a droga, a taxa de perda óssea decresceu dramaticamente 66-91% em cães tratados com flurbiprofem.

Em outro estudo do mesmo grupo, em 1985, o metabolismo ósseo alveolar em cães beagles com doença periodontal foi monitorado por um período de 15 meses. Nos primeiros seis meses, os animais foram examinados trimestralmente e separados em grupos com média de perda óssea semelhante. Nos nove meses seguintes, os animais foram tratados. Doze cães receberam tratamento convencional em metade da boca. A outra metade da boca não foi tratada. Além do tratamento convencional, seis cães receberam 0.02 mg/dia de flurbiprofem, e seis cães receberam placebo. A avaliação óssea foi feita através da utilização de um fármaco radioativo, que por meio de sua incorporação pelo tecido ósseo, permite verificar mudanças no metabolismo ósseo que ocorrem antes que se possa verificar alterações na imagem radiográfica. Os resultados demonstraram que os animais que receberam placebo, tratados por procedimentos cirúrgicos como não cirúrgicos, não apresentaram redução na taxa de perda óssea durante o período de tratamento. Os cães que receberam flurbiprofem mostraram diminuição significativa da taxa de perda óssea durante o período de tratamento. (Jeffcoat et al.)³².

A eficácia do antiinflamatório não esteróide flurbiprofem, sobre a progressão natural da doença periodontal em cães beagles, foi comparada com a eficácia da indometacina por Williams et al.,⁸¹ em 1987. Os autores avaliaram o efeito dessas drogas, indometacina (1mg/kg) e flurbiprofem (0,02mg/kg), sobre a doença periodontal em 16 cães beagles por um período de 12 meses. Radiografias padronizadas foram obtidas a cada 3 meses para medir a taxa de perda óssea

ocorrida nesse período. No grupo não tratado, a taxa de perda óssea aumentou significativamente (92.8%). Em contraste, a taxa de perda óssea diminuiu significativamente no grupo tratado com flurbiprofem (62.8%). No grupo tratado com indometacina, a taxa de perda óssea não foi significativamente menor em relação ao baseline (23.8%) . Quando a taxa de perda óssea dos grupos de animais tratados, com flurbiprofem ou com indometacina, foi comparada com relação a do grupo não tratado, encontrou-se uma diferença significante ($p < 0.01$) para os grupos tratados. Os dados indicaram que ambos flurbiprofem e indometacina inibiram a perda óssea alveolar em cães beagles quando comparados ao controle não tratado.

O efeito da droga flurbiprofem em duas concentrações diferentes, 0,27mg/kg/dia e 7,1mg/kg/dia, foi avaliada em modelo de periodontite de progressão natural e induzida por ligadura em 24 macacos adultos por Offenbacher et al.,⁵⁷ em 1987. As ligaduras foram colocadas de um lado da boca dos macacos e o monitoramento da progressão da doença periodontal, consistindo de radiografias padronizadas, determinações do nível de inserção de Ramfjord e anotação dos escores de eritema, edema e sangramento a sondagem nas superfícies vestibulares, foram realizados no início do experimento e, em intervalos regulares (1, 2, 4, 12, 18 e 24 semanas) durante 6 meses, por um examinador cego. Houve uma inibição estatisticamente significante da perda de inserção ($p < 0.05$) e do eritema gengival ($p < 0,05$) tanto na periodontite de

progressão natural, quanto na induzida por ligadura, em animais tratados com flurbiprofen em ambas as concentrações utilizadas.

Outra droga, o ibuprofen, também foi avaliada quanto ao seu efeito sobre a taxa de perda óssea periodontal, de ocorrência natural em beagles, por Williams et al.,⁸² em 1988. Após um período de pré-tratamento de 6 meses, 6 animais foram tratados diariamente por 6 meses com ibuprofen na concentração de 4mg/kg, 5 cães foram tratados diariamente com 4mg/kg de ibuprofen em um dispositivo de liberação lenta, 5 animais receberam 0,4mg/ml de ibuprofen e 6 animais não tratados serviram com controle. Nos cães tratados com ibuprofen 4mg/kg e com dispositivo de liberação lenta de ibuprofen 4mg/kg a taxa de perda óssea diminuiu significativamente em relação ao período de pré-tratamento. Nos cães tratados com 0,4mg/kg de ibuprofen a taxa de perda óssea não foi significativamente menor do que no período de pré-tratamento. Todos os três grupos tratados com ibuprofen apresentaram menor taxa de perda óssea quando comparado ao grupo controle. Os cães controle perderam 10 dentes durante o período de tratamento, enquanto que os cães tratados com 4mg/kg e 0,4mg/kg de ibuprofen perderam 6 dentes e os animais que receberam ibuprofen 4mg/kg em dispositivo de liberação lenta perderam 2 dentes. Os autores concluem que o ibuprofen 4mg/kg em dispositivo de liberação lenta, o qual atingiu níveis sanguíneos maiores por 24 horas, foi mais efetivo em relação aos demais tratamentos.

Além da taxa de progressão da perda óssea, Williams et al.,⁸³ 1988, demonstraram que os níveis de metabólitos do AA, presentes no fluido crevicular gengival, também são bons parâmetros para avaliar a ação de AINEs sobre a doença periodontal. Esses autores estudaram o efeito da indometacina (1mg/kg) e do flurbiprofem (0,02mg/kg) sobre a progressão da perda óssea e sobre os níveis de quatro metabólitos do AA (PGE₂, PGF₂α, TXB₂ e 6K-PGF₁β) presentes no fluido do sulco gengival de 16 cães beagles por um período de 12 meses. Radiografias padronizadas foram utilizadas para mensurar a taxa de perda óssea e teste radioimunoensaio foi utilizado para medir os níveis do crevicular dos metabólitos. Com a administração de ambas as drogas, os níveis creviculares de PGE₂, PGF₂α e TXB₂ foram decrescidos significativamente de maneira similar. Os níveis de 6K-PGF₁α não foram alterados. No entanto, flurbiprofem decresceu significativamente a taxa de perda óssea em relação ao baseline, enquanto que a indometacina não. Os autores sugerem que a habilidade do flurbiprofem em afetar a reabsorção óssea, talvez não dependa apenas da simples inibição da COX.

Além da administração sistêmica, os AINEs também podem ser aplicados topicamente. No estudo de Williams et al.,⁸⁴ 1988, avaliou-se o efeito do antiinflamatório não esteróide flurbiprofem, topicamente aplicado, sobre a progressão da doença periodontal em 12 cães beagles por um período de 13 meses. Radiografias padronizadas foram utilizadas para medir a taxa de perda óssea. Após um período pré- tratamento de 6 meses, 6 cães foram tratados

diariamente com 0,3mg de flurbiprofem aplicado suavemente na margem gengival em veículo gel. Seis animais não- tratados serviram com controle. Nestes animais controle a taxa de perda óssea no período de tratamento não alterou significativamente em relação ao baseline, embora a taxa tenha elevado em 38%. Ao contrário, a taxa de perda óssea diminuiu 71% em relação ao baseline nos cães tratados com flurbiprofem. Os animais controle perderam 10 dentes durante o período de tratamento enquanto que os animais tratados com flurbiprofem perderam 1 dente. Deste modo, os dados deste estudo sugeriram que a aplicação tópica de flurbiprofem pode não apenas diminuir a taxa de reabsorção óssea alveolar como também evitar a perda de dentes.

Offenbacher et al.,⁵⁸ 1989, examinaram os quatro principais metabólitos da COX, PGE₂, TXB₂, prostaciclina (PGI₂) e PGF₂α, durante a progressão da periodontite experimental em 32 macacos *Macaca mulatta* tratados com flurbiprofem 0,027, 0,27 ou 7,1mg/kg/dia liberado sistemicamente por uma mini-bomba osmótica implantada subcutaneamente. Em animais não tratados houve um aumento 3 vezes maior, quando comparado ao baseline, nos níveis creviculares de PGE₂ e TXB₂ aos 3 meses, os quais correlacionaram-se positivamente com os aumentos nos graus de eritema, sangramento, perda de inserção e perda óssea. Flurbiprofem, aos 3 meses, preveniu o aumento na TXB₂, mas não afetou o aumento da PGE₂. Aos 6 meses, a administração de flurbiprofem causou uma inibição dose- dependente de ambos PGE₂ e TXB₂.

Em 1990, Kornman et al.⁴⁰ avaliaram o efeito de dois antiinflamatórios sobre a gengivite pré-existente, a conversão gengivite-periodontite, a microbiota subgengival associada e a resposta polimorfonuclear (PMN) gengival em 18 macacos *Macaca fascicularis*. Os animais foram divididos em três grupos: ibuprofen 8%, ácido meclofenâmico 5% ou placebo aplicados topicamente 5 dias por semana durante 20 semanas. Após 4 semanas de tratamento, a periodontite foi iniciada em um dos quadrantes pela colocação de ligaduras. Foram monitorados parâmetros clínicos (sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e presença de placa supragengival), perda óssea por análise radiográfica densitométrica (CADIA), e cultura microbiológica de placa subgengival. A quimiotaxia de PMN *in situ* foi acessada pela quantificação de PMNs que entravam no sulco em resposta a atração quimiotática exercida pela *n*-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. Não foi encontrada nenhuma diferença significativa nos parâmetros clínicos nos grupos tratados. A perda óssea radiográfica foi detectada em todos os sítios nos animais controle quando comparada com 67% e 44% para os animais tratados com ibuprofen e ácido meclofenâmico, respectivamente. Os escores da média de análise radiográfica densitométrica por animal mostraram uma perda significativa na densidade óssea para o controle na sexta e na décima sexta semana, nenhuma alteração para o grupo flurbiprofen e um aumento significativo na densidade para os animais tratados com ácido meclofenâmico. Além disso, os PMNs foram encontrados em níveis mais altos do que no placebo nos animais tratados com ácido

meclofenamico, em todos os períodos avaliados. Os efeitos sobre a densidade óssea foram atingidos sem a eliminação da gengivite clínica e sem efeitos significativos sobre a microbiota subgengival.

Howell et al.,³⁰ 1991, estudaram o efeito da aplicação tópica do AINE piroxican sobre a prevenção da inflamação gengival e sobre a formação de placa em 12 cães beagles. Estes animais foram divididos em três grupos: administração diária de 1ml de gel placebo (methylcellulose), aplicação diária de 1ml de gel contendo 2mg/kg de piroxican e um terceiro grupo onde os animais receberam aplicação diária de 1ml de líquido contendo 2mg/kg de piroxican. As avaliações a cada duas semanas consistiram de avaliação de acúmulo de placa, inflamação gengival, sangramento à sondagem e manchamento dental. O acúmulo de placa durante o período avaliado foi substancial para os três grupos sem diferenças entre os mesmos. Na segunda semana, o índice gengival nos animais tratados com piroxican foi significativamente menor do que nos animais do grupo placebo (0.88 e 0.90, para os grupos gel e líquido, respectivamente) e, permaneceu assim durante todo o estudo, com exceção da sexta e décima segunda semana, no grupo tratado com gel tópico. A porcentagem média de sítios com sangramento também foi significativamente menor nos grupos tratados com piroxican do que no grupo controle. O manchamento dos dentes aumentou para todos os grupos durante o período de tratamento. Os autores concluíram que piroxican pode inibir significativamente o desenvolvimento da inflamação gengival em cães beagles.

Howell et al.,³¹ 1991, avaliaram a inibição da perda óssea alveolar em beagles com a administração diária de naproxen na dosagem de 2mg/kg durante um mês e, posteriormente na dosagem de 0,2mg/kg por 6 meses. Radiografias padronizadas foram utilizadas para medir a taxa de perda óssea durante os períodos de pré- tratamento (6 meses) e de tratamento (6 meses). Quando a porcentagem média de alteração na taxa de perda óssea durante o período inteiro do tratamento foi comparada em relação período de pré- tratamento, os animais controle demonstraram um aumento de 38% na taxa de perda óssea durante o período de tratamento contrastando com um decréscimo de 61% na taxa de perda óssea no grupo tratado com naproxen. Os dados sugerem, segundo os autores, que o AINE naproxen pode inibir significativamente a perda óssea alveolar em beagles.

Offenbacher et al.,⁵⁹ 1992, utilizaram o modelo de progressão natural de periodontite em animais beagles para determinar se a inibição da doença induzida pelo tratamento com antiinflamatórios não esteróides poderia estar correlacionada com a inibição da COX. Os animais foram divididos em seis grupos: cápsula gelatinosa como placebo, ibuprofen sistêmico 0,4mg/kg/dia, 4mg/kg/dia, ou um dispositivo de liberação lenta designado para liberar 4mg/kg/dia de ibuprofen, 0,3mg tópica de flurbiprofen em 1ml de gel colocado na gengiva com o auxílio de um pincel uma vez ao dia ou, naproxen sistêmico 2mg/kg/dia. Durante os 6 meses de tratamento, amostras do fluido do sulco gengival e radiografias foram retiradas a intervalos regulares. O teste

radioimunoensaio das amostras creviculares dos animais não- tratados demonstraram um aumento constante na PGE₂ em relação aos valores do baseline. Com um mês, os níveis de PGE₂ aumentaram duas vezes em relação ao baseline e aos 6 meses, alcançaram uma elevação de 5 a 6 vezes. Os níveis de TXB₂ alcançaram rapidamente um pico 4 a 5 vezes maior que o baseline no primeiro mês e subsequentemente decaíram para uma elevação de 2 vezes até o final do estudo. A taxa de perda óssea nos animais não- tratados aumentou 38% durante o período de 6 meses, quando comparado as taxas de perda óssea do baseline. No geral, houve uma depressão significativa nos níveis creviculares de PGE₂ e de TXB₂ e um retardo significativo da perda óssea, variando de 21- 36,9% da taxa de perda óssea do controle, em todos os grupos tratados com AINEs.

Li et al.,⁴⁴ 1996, avaliaram a utilização do antiinflamatório não esteróide ketoprofem, na forma de creme, no tratamento da doença periodontal induzida por ligadura em macacos rhesus, *Macaca mulatta*. Duas formulações contendo ketoprofem 1%, com ou sem vitamina E, foram avaliadas contra o controle (8 animais por grupo). Os cremes foram aplicados na gengiva na quantidade de 1,8ml uma vez ao dia por macaco durante 6 meses. Os parâmetros clínicos - formação de placa, eritema da gengiva, edema, sangramento à sondagem e mensuração do nível de inserção de Ramfjord – foram verificados 2 semanas antes, no baseline e 1, 2, 3 e 6 meses após o tratamento. Radiografias padronizadas foram retiradas 2 semanas antes do tratamento, no primeiro dia e 3 e 6 meses após o tratamento, para medir através de subtração radiográfica digital, a

perda óssea linear vertical ao longo dos primeiros molares mandibulares. Amostras do fluido do sulco gengival foram coletadas para ensaios bioquímicos de PGE₂, TXB₂, LTB₄, IL-1 β e TNF α . Não houve diferenças significativas entre os grupos no que diz respeito aos índices gengivais. Os dados radiográficos demonstraram efeitos positivos significativos sobre a atividade óssea em ambos os grupos tratados com as formulações de ketoprofem, com melhora ao longo do tempo ($0,01 \leq p \leq 0,04$). O grupo placebo exibiu perda óssea de $1,96 \pm 0,48$ e $1,4 \pm 0,56$ mm por sítio aos 3 e 6 meses, respectivamente. O grupo tratado com ketoprofem creme mostrou um aparente ganho ósseo de $0,28 \pm 0,41$ e $0,78 \pm 0,47$ mm por sítio aos 3 e 6 meses, respectivamente. O grupo tratado com ketoprofem creme contendo vitamina E mostrou uma perda óssea de $0,41 \pm 0,48$ por sítio aos 3 meses com melhora para um aparente ganho ósseo de $0,31 \pm 0,44$ mm por sítio aos 6 meses. Os dados bioquímicos demonstraram uma supressão precoce e significativa de LTB₄ no fluido do sulco gengival no primeiro mês e de PGE₂ aos 2 e 3 meses no modelo da ligadura ($p < 0,003$). Os autores concluem que ketoprofem 1% em veículo tópico pode inibir efetivamente LTB₄ e PGE₂ e alterar positivamente a atividade óssea alveolar no modelo de indução de doença periodontal induzida em macacos.

Paquette et al.,⁶² 1997, avaliaram os efeitos inibitórios do (S)-ketoprofem sobre a perda óssea alveolar induzida experimentalmente em cães beagles nos dentes pré- molares e molares. No baseline, os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos consistindo em duas administrações diárias

por um período de 60 dias de tratamento com (1) dentifrício placebo, (2) 0,3% de dentifrício (S)-ketoprofem, ou (3) 3,0% de dentifrício (S)-ketoprofem, ou (4) 10,0 mg (S)-ketoprofem em cápsulas. Radiografias periapicais padronizadas nos dias 1 e 60 foram analisadas por sistema de radiografia digital para avaliar a taxa de perda óssea alveolar. Além disso, foram utilizados a incorporação de um marcador radioativo e índice gengival. Os animais tratados com (S)-ketoprofem sistêmico ou tópico exibiram menores taxas de perda óssea comparando-se com os animais do grupo placebo ($p < 0,05$). Os animais tratados com 0,3% (S)-ketoprofem demonstraram uma redução na incorporação do marcador radioativo technetium 99m -tin-diphosphonate e os outros grupos demonstraram uma elevação durante o período de 60 dias. Os animais tratados com dentifrício 0,3% ou 3% (S)-ketoprofem exibiram elevações significativamente reduzidas nos escores do índice gengival quando comparado ao placebo. Estes dados, segundo os autores, evidenciaram que a terapia com (S)-ketoprofem, tópica ou sistêmica, pode alterar a progressão da doença periodontal em cães beagles.

Em estudo recente de Bezerra et al.,⁵ 2000, analisou-se o efeito o tratamento diário com um inibidor não-seletivo da COX (indometacina 0.5, 1 ou 2mg/kg) ou com um inibidor seletivo da COX-2 (meloxicam 0.75, 1.5 ou 3mg/kg) sobre a perda óssea alveolar decorrente de um modelo de doença periodontal induzida por ligadura ao redor dos molares superiores em ratos. Após 7 dias, os animais foram sacrificados e a perda óssea alveolar foi medida macroscopicamente em todas as superfícies proximais de todos os molares

superiores de um quadrante, através da distância entre a junção cimento-esmalte e o osso alveolar. O outro quadrante foi processado para análise histopatológica. A contagem de células brancas sanguíneas foi realizada 6 horas e no 1^o e 7^o dias após a indução da periodontite. No grupo não tratado foram observados uma significativa perda óssea alveolar média, severo influxo mononuclear e um aumento do número de osteoclastos. Uma significativa neutrofilia e linfocitose ocorreu após 6 horas e no 7^o dia, respectivamente. Nos grupos tratados com indometacina ou com meloxicam, houve uma menor perda óssea média associada com um menor influxo de células mononucleares e de osteoclastos. Nestes grupos tratados, houve uma significativa reversão da neutrofilia e linfocitose a níveis compatíveis com aqueles encontrados em ratos controle, ou seja, não submetidos a periodontite experimental.

Tabela 1- Uso de antiinflamatórios não-esteróides no tratamento da doença periodontal. Estudos em Animais.

Autor Ano de Publicação País	Tipo de estudo Número (N) Período de estudo	AINE utilizado Regime terapêutico Associação com tratamento periodontal	Resultados
Nyman et al. ⁵² 1979 Suíça	Cães Beagle/Periodontite experimental N = 3 Período = 2 meses	Indometacin (1mg/kg) Via oral, 2X/dia, 28 dias	Diminuição da magnitude da reação inflamatória aguda e redução da quantidade de reabsorção óssea alveolar
Lasfargues & Saffar ⁴² 1983 França	Hamster/Periodontite experimental N = 58 Período = 12 semanas	Indometacin (2mg/kg) Intubação gástrica, 1X/dia, 6semanas	Diminuição da perda óssea (28%) e do número de osteoclastos por mm (55%).
Williams et al. ⁸⁰ 1984 USA	Cães Beagle N = 12 Período = 18 meses	Flurbiprofem (0.02mg/kg) Via oral, 1X/dia, 12 meses	A taxa de perda óssea decresceu de 66-91% em cães tratados com flurbiprofem.
Jeffcoat et al. ³² 1985 USA	Cães Beagle N = 12 Período = 15 meses	Flurbiprofem (0.02mg/kg) Via oral, 1X/dia, 9 meses RAR	A taxa de perda óssea diminuiu nos cães que receberam flurbiprofem. Os animais tratados com placebo, não apresentaram redução da taxa de perda óssea.
Williams et al. ⁸¹ 1987 USA	Cães Beagle N = 16 Período = 12 meses	Indometacina (1 mg/kg) ou Flurbiprofem (0.02mg/kg) Via oral, 1X/dia, 6 meses	A taxa de perda óssea diminuiu significativamente no grupo tratado com flurbiprofem. No grupo tratado com indometacina, a taxa de perda óssea não foi significativamente diferente do período pré-tratamento.
Offenbacher et al. ⁵⁷ 1987 USA	Macacos/Periodontite experimental N = 24 Período = 6 meses	Flurbiprofem (0.27 mg/kg ou 7.1 mg/kg) Bomba osmótica com liberação diária, recolocação cada 4 ou 2 semanas, 6 meses	Houve uma inibição estatisticamente significativa da perda de inserção (p. < 0,05) e do eritema gengival (p<0,05) tanto na periodontite de progressão espontânea quanto na induzida por ligadura em animais tratados com flurbiprofem, em ambas as concentrações utilizadas.
Williams et al. ⁸² 1988 USA	Cães Beagle N = 22 Período = 13 meses	Ibuprofen Via oral (0.4mg/kg, 4mg/kg), 1X/dia, 7 meses	Nos cães tratados com ibuprofen 4mg/kg a taxa de perda óssea diminuiu significativamente em relação ao período pré-tratamento. Nos cães tratados com 0,4mg/kg de ibuprofen a taxa de perda óssea não foi significativamente menor do que no período pré-tratamento. Todos os grupos tratados apresentaram menor taxa de perda óssea quando comparada ao grupo controle.
Williams et al. ⁸³ 1988 USA	Cães Beagle N = 16 Período = 12 meses	Indometacina (1 mg/kg) ou Flurbiprofem (0.02mg/kg) Via oral, 1X/dia, 6 meses	Com a administração de ambas as drogas, os níveis creviculares de PGE ₂ , PGF _{2α} e TXB ₂ foram decrescidos significativamente. Os níveis de 6K-PGF _{1α} não foram alterados. Flurbiprofem decresceu significativamente a taxa de perda óssea em relação ao período inicial, enquanto que a indometacina não.
Williams et al. ⁸⁴ 1988 USA	Cães Beagle N = 12 Período = 13 meses	Flurbiprofem gel (0.3mg) Aplicação tópica, 1X/dia, 7 meses	A taxa de perda óssea diminuiu 71% em relação ao baseline nos cães tratados. Os animais controle perderam 10 dentes durante o período de tratamento enquanto que os animais tratados perderam 1 dente.
Offenbacher et al. ⁵⁸ 1989 USA	Macacos/Periodontite experimental N = 32 Período = 12 meses	Flurbiprofem (0.027mg/kg, 0.27mg/kg ou 7.1mg/kg) Bomba osmótica com liberação diária, recolocação cada 4 ou 2 semanas, 12 meses	Flurbiprofem, aos 3 meses, preveniu o aumento na TXB ₂ , mas não afetou o aumento da PGE ₂ . Aos 6 meses, causou uma inibição dose- dependente de PGE ₂ e TXB ₂ . Aos 12 meses, os níveis de ambos voltaram ao nível do baseline.

Tabela 1- Uso de antiinflamatórios não-esteróides no tratamento da doença periodontal. Estudos em Animais.Continuação.

Autor Ano de Publicação País	Tipo de estudo Número (N) Período de estudo	AINE utilizado Regime terapêutico Associação com tratamento periodontal	Resultados
Kornman et al. ⁴⁰ 1990 USA	Macacos/Periodontite experimental N = 18 Período = 20 semanas	Ibuprofen 8% ou ácido meclofenamico 5% Aplicação tópica, 5 X/semana, 20 semanas	A perda óssea radiográfica foi menor nos animais tratados com ibuprofen e ácido meclofenamico. O grupo ácido meclofenamico apresentou um aumento significativo na densidade óssea. Além disso, os PMNs foram encontrados em níveis mais altos do que no placebo nos animais tratados com ácido meclofenamico, em todos os períodos avaliados. Estes efeitos foram atingidos sem a eliminação da gengivite clínica e sem efeitos significativos sobre a microbiota subgengival.
Howell et al. ³⁰ 1991 USA	Cães Beagle N = 12 Período = 20 semanas	Piroxican (2mg/kg) Aplicação tópica de gel ou líquido, 1X/dia, 16 semanas	O índice gengival e a porcentagem média de sítios com sangramento nos animais tratados foi significativamente menor do que nos animais do grupo placebo.
Howell et al. ³¹ 1991 USA	Cães Beagle N = 12 Período = 13 meses	Naproxen (2mg/kg durante um mês e, 0,2mg/kg por 6 meses) Via oral, 1X/dia, 7 meses	Nos cães tratados a perda óssea foi significativamente menor aos 4 meses; contudo, aos 7 meses a diferença, embora menor do que o período de pré- tratamento, não foi significativa.
Offenbacher et al. ⁵⁹ 1992 USA	Cães Beagle N = 36 Período = 6 meses	Ibuprofen (04mg/kg ou 4mg/kg) ou naproxen (2mg/kg) ou flurbiprofem (0,3mg) Aplicação tópica (flurbiprofem 0.3 mg); dispositivo de liberação controlada (ibuprofen 4mg/kg) ou sistêmica, via oral (Ibuprofen 04mg/kg ou 4mg/kg; naproxen 2mg/kg), 1X/dia, 6 meses	Houve uma depressão significativa nos níveis de PGE2 e de TXB2 e um retardo significativo da perda óssea, em todos os grupos tratados com AINEs. A aplicação tópica de flurbiprofem foi tão efetiva quanto as demais na depressão dos níveis de PGE2 e de TXB2.
Li et al. ⁴⁴ 1996 USA	Macacos/ Periodontite experimental N = 32 Período = 6 meses	Ketoprofem creme 1% com ou sem vitamina E Aplicação tópica, 1X/dia, 6 meses	Não houve diferenças significativas entre os grupos no que diz respeito aos índices gengivais. Os dados radiográficos demonstraram efeitos positivos significativos sobre a atividade óssea, com um aparente ganho ósseo, em ambos os grupos tratados com ketoprofem. O grupo tratado com ketoprofem creme contendo vitamina E mostrou um aparente ganho ósseo aos 6 meses. Houve uma supressão significativa de LTB4 no primeiro mês e de PGE2 aos 2 e 3 meses.
Paquette et al. ⁶² 1997 USA	Cães Beagle/ Periodontite experimental N = 16 Período = 74 dias	(S)-Ketoprofem dentifrício (0,3% ou 3,0%) ou cápsulas (10,0 mg) Aplicação tópica ou sistêmica, 1X/dia, 60 dias	Os animais tratados exibiram menores taxas de perda óssea comparando-se com os animais do grupo placebo (p<0,05). Os animais tratados com 0,3% (S)-ketoprofem tópico, demonstraram uma redução na incorporação de marcador radioativo e os demais grupos demonstraram uma elevação durante o período de 60 dias. Os animais tratados com dentifrício exibiram menores escores de índice gengival quando comparado ao grupo placebo.
Bezerra et al. ³ 2000 Brasil	Ratos/ Periodontite experimental N = 48 Período = 7 dias	Indometacina (0.5, 1 ou 2mg/kg) ou Meloxican (0.75, 1.5 ou 3mg/kg) Injeção subcutânea, 1X/dia, 7 dias	Nos grupos tratados com indometacina ou com meloxican, houve uma menor perda óssea média associada com um menor influxo de células mononucleares e de osteoclastos. Nestes grupos tratados, houve uma significante reversão da neutrofilia e linfocitose a níveis compatíveis com aqueles encontrados em ratos não submetidos a periodontite experimental.

2 . 3 . 2 – Estudos em humanos

As primeiras observações sobre os efeitos de AINEs sobre os tecidos periodontais humanos foram realizadas a partir do estudo epidemiológico de Waite et al.,⁷⁸ 1981. Esses autores investigaram a prevalência de doença periodontal em um grupo de 22 pacientes que faziam uso de AINEs há mais de um ano para tratamento de artrite reumatóide, e compararam com um grupo controle de 22 pacientes que não estavam sob nenhum tipo de medicação. Foi realizado um pareamento entre os indivíduos do grupo teste com os indivíduos do grupo controle em relação a idade e índice de placa. Observou-se que o grupo teste apresentava valores significativamente menores de índice gengival, menores profundidades de sondagem e, também uma tendência para menor perda de inserção em comparação com o grupo controle. Estes resultados foram interpretados pelos autores como indicador de que os AINEs podem influenciar a resposta dos tecidos periodontais à placa, através da redução da concentração de prostaglandinas nos tecidos.

Em um estudo similar, Feldman et al.,¹⁵ 1983, avaliaram radiograficamente a perda óssea alveolar proximal em 75 pacientes com artrite reumatóide que estivessem recebendo terapia com aspirina e/ou indometacina há pelo menos 5 anos consecutivos e, compararam com a perda óssea proximal encontrada em 75 pacientes que não recebiam terapia com antiinflamatórios. Os dados demonstraram que a população que recebia terapia com AINEs apresentou menor número de sítios com perda óssea superior a 10%, em comparação com a

população controle ($P < 0.05$). A porcentagem média de perda óssea para toda a dentição também foi menor no grupo tratado, apesar de essa diferença não ter sido significativa.

Embora os resultados desses dois estudos tenham sido interessantes, nenhum deles demonstrou evidências conclusivas a respeito do papel dos AINEs sobre a inibição da perda óssea alveolar. De fato, se os resultados desses estudos fossem considerados independentemente dos estudos com animais, poder-se-ia sugerir que a menor perda óssea encontrada em pacientes com artrite reumatóide seria resultante da alteração dos mecanismos imunológicos. Contudo, inúmeros estudos foram realizados para estabelecer o papel dos AINEs sobre a inflamação periodontal.

Os efeitos da administração de flurbiprofem em pacientes com periodontite refratária, foram estudados por Jeffcoat et al.,³³ 1988. Esses pesquisadores de Harvard observaram em 15 pacientes, o efeito do tratamento diário com flurbiprofem 50mg durante 2 meses sobre a alteração da altura óssea determinada por subtração radiográfica e sobre o metabolismo ósseo determinado por meio de injeção intravenosa de um marcador radioativo (^{99m}Tc – MDP) antes do tratamento com droga antiinflamatória não-esteróide e 2 meses após. Este estudo duplo-cego contou ainda com um grupo controle que recebeu placebo durante o mesmo período. A análise pós-tratamento demonstrou que a incorporação de marcadores foi significativamente reduzida no osso alveolar de dentes que apresentavam perda óssea ativa no início do estudo em pacientes que

receberam flurbiprofem ($p<0.4$), enquanto que nenhuma alteração significativa foi observada nos pacientes tratados com placebo. Houve uma perda óssea significativamente menor durante o período de 2 meses em pacientes tratados com flurbiprofem quando comparada com a perda óssea ocorrida em pacientes tratados com placebo ($p<0.2$).

O efeito do flurbiprofem, na diminuição da progressão da perda óssea alveolar em humanos, foi estudada por Williams et al.,⁸⁵ 1989. 56 indivíduos com evidência radiográfica de perda óssea foram selecionados para esse estudo. 44 pacientes permaneceram no estudo para a análise de dados de perda óssea alveolar. 6 meses após o período pré-tratamento inicial para medir a progressão radiográfica de perda óssea, metade dos pacientes começaram a receber diariamente flurbiprofem, 50mg, enquanto a outra metade recebeu placebo. Todos os pacientes receberam um tratamento periodontal básico, que consistiu de raspagem e alisamento radicular e profilaxia a cada 6 meses. A taxa de perda óssea medida através de subtração radiográfica digital, em um período de 2 anos foi comparada com a taxa do baseline de 6 meses prévio ao tratamento. Nos indivíduos que receberam placebo, a taxa de perda óssea foi significativamente menor ($p<0.05$) aos 6 e 12 meses de tratamento do que no baseline, após esse período a taxa aumentou. Indivíduos que receberam flurbiprofem tiveram um decréscimo significativo ($p<0.05$) na taxa de perda óssea aos 6, 12 e 18 meses de tratamento, quando comparada ao baseline. Além disso, aos 12 e 18 meses a taxa de perda óssea nos indivíduos tratados com flurbiprofem

foi significativamente menor do que nos indivíduos tratados com placebo. Contudo, aos 24 meses de tratamento, não houve diferença em taxa de perda óssea entre os dois grupos.

Heasman & Seymour,²³ 1989, avaliaram o efeito do flurbiprofem nos sinais clínicos de gengivite. Gengivite experimental foi induzida em 25 indivíduos sadios através de supressão de higiene bucal por um período de 21 dias. Após 21 dias, os indivíduos foram divididos em 3 grupos, que receberam diferentes tratamentos por um período de 6 dias. O grupo A recebeu flurbiprofem por via oral na dosagem de 100mg/dia associado à higiene bucal. O grupo B recebeu um placebo via oral e higiene oral. O grupo C recebeu somente flurbiprofem por via oral na dosagem de 100mg/dia. Nos dias 22, 23, 24 e 27, os índices de placa, gengival e de profundidade de sondagem foram determinados em 6 dentes da mandíbula e 6 dentes da maxila de cada indivíduo. A redução no índice gengival ocorreu em todos os grupos entre o 22^o e 27^o dias. A diferença entre os 3 tratamentos foi pequena. Os efeitos da droga puderam ser verificados quando ela foi usada como tratamento único ou associado à escovação.

Heasman & Seymour,²⁴ 1990, avaliaram o estado periodontal de um grupo de 50 pacientes que faziam uso de antiinflamatórios não esteróides por um período de pelo menos 2 anos para tratamento de artrite reumatóide e compararam com um grupo controle de 42 pacientes. Os parâmetros clínicos analisados foram índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem, perda de inserção, recessão gengival e fluxo de fluido gengival. Radiografias

periapicais também foram realizadas para avaliar a quantidade de reabsorção óssea alveolar. Os exames foram feitos em 6 dentes de Ramfjord em cada paciente. Os resultados demonstraram que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos quanto ao índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem, perda de inserção, recessão gengival e perda óssea radiográfica. Contudo, uma diferença altamente significativa foi encontrada quanto ao fluxo do fluido gengival no grupo tratado (16.74 ± 10.61) e grupo controle (37.72 ± 28.63) com $p < 0.0001$. Segundo os autores, esses resultados sugerem que isso possa estar associado aos efeitos específicos dos antiinflamatórios não esteróides na redução da vascularidade e permeabilidade dos pequenos vasos sanguíneos.

O tratamento de gengivite com um antiinflamatório não esteróide, o Naprosyn, foi avaliado por Johnson et al.,³⁷ em 1990. Nesse estudo, 102 pacientes que apresentavam escores de índice gengival maiores ou iguais a 1.5, receberam por um período de 30 dias administração oral de Naprosyn 500mg duas vezes ao dia ou de placebo. No 28º dia foi realizada profilaxia e raspagem e aplainamento radicular de todos os dentes desses pacientes. Os parâmetros índice gengival, índice de sangramento sulcular modificado, e índice de placa foram realizados no baseline, no 28º dia e no 30º dia. Quando as medidas do 28º dia foram comparadas com as medidas do baseline, observou-se que a terapia com naprosyn não resultou em melhoras significantes nos escores de índice de placa ou de inflamação gengival. Após a remoção da placa bacteriana, houve uma melhora

estatisticamente significativa da inflamação gengival quando comparada com o grupo placebo.

Jeffcoat et al.,³⁴ 1991, avaliaram o efeito de um antiinflamatório, naproxen, na redução da atividade de doença periodontal em 15 pacientes com periodontite agressiva. Todos os pacientes foram tratados com raspagem e alisamento radicular. Após isso, durante 3 meses, 7 pacientes receberam 500mg de naproxen e 8 pacientes receberam placebo. A atividade da doença foi medida de três maneiras. Primeiro, a altura do osso alveolar foi determinada por meio de radiografias padronizadas. Segundo, alterações no metabolismo ósseo foram observadas por meio da incorporação de um marcador radioativo (99m-Tc-metileno difosfonado) anterior à administração da droga e 3 meses após. Finalmente, a perda ou o ganho ósseo foram detectados através da subtração digital de imagens radiográficas. Durante o período de 3 meses, houve uma perda óssea média, determinada pela altura óssea alveolar, de 0.14 mm no grupo placebo enquanto que, nos pacientes tratados com naproxen houve um ganho médio de 0.27mm. Esta diferença foi significativa aon nível de $p < 0.001$. A incorporação de marcadores foi significativamente reduzida no osso alveolar em pacientes que receberam naproxen ($p < 0.03$), enquanto nenhuma alteração significativa foi encontrada nos pacientes tratados com placebo. Além disso, o grupo tratado com naproxen apresentou um ganho ósseo demonstrado através da subtração de imagens radiográficas.

Em 1992, Abramson et al.,¹ determinaram o efeito da terapia sistêmica com flurbiprofem sobre os níveis de PGE₂ e de TXB₂ presentes no fluido do sulco gengival de 21 pacientes. Os grupos de tratamento foram os seguintes: I) 10 pacientes que receberam flurbiprofem, 100mg, 3 vezes ao dia durante 42 dias, e II) 11 pacientes que receberam placebo três vezes ao dia. Todos os pacientes receberam placebo do 1^o ao 7^o dia e do 51^o ao 57^o dia. Os pacientes do grupo flurbiprofem receberam a droga do 8^o ao 50^o dia, enquanto que os pacientes do outro grupo receberam placebo. A maioria dos pacientes apresentava de gengivite a periodontite precoce, de acordo com o índice gengival e medidas de nível de inserção clínica realizados no primeiro dia. O fluido do sulco gengival foi coletado das áreas interproximais de seis dentes índice para posterior análise dos níveis de PGE₂ e de TXB₂ nos dias 1, 29^o, 50^o e 57^o. O grupo tratado com flurbiprofem apresentou um significativo decréscimo no nível médio de PGE₂, caindo de 56.8ng/ml no primeiro exame para 31.9ng/ml após o tratamento com a droga, p<0.05. Este grupo também apresentou um significativo decréscimo no nível médio de TXB₂, caindo de 84.8ng/ml no primeiro exame para 24.5ng/ml após o tratamento com a droga, p<0.05. Foi observado ainda que a administração de flurbiprofem não obteve um efeito duradouro na manutenção dos níveis decrescidos de PGE₂ e de TXB₂ após o término da terapia com a droga. Os níveis desses metabólitos voltaram aos mesmos níveis do primeiro dia, 7 dias após o encerramento da terapia com flurbiprofem.

De forma similar, Heasman et al.,²⁵ 1993, examinaram os efeitos sistêmicos do flurbiprofem, sobre o desenvolvimento e estabelecimento de gengivite experimental em 21 pacientes com gengiva saudável, os quais abstiveram-se dos procedimentos de higiene oral por 21 dias. 7 pacientes receberam flurbiprofem 50mg, iniciando-se o tratamento no primeiro dia do experimento, e 14 pacientes do grupo controle receberam placebo. No primeiro dia do experimento e no 7^o, 14^o e 21^o dias, foram acessados o grau de eritema e sangramento à sondagem, através de escore dicotômico. Amostras do fluido do sulco gengival também foram coletadas no primeiro dia do experimento e no 21^o dia, para verificação dos níveis de PGE₂, TXB₂ e LTB₄. Os resultados demonstraram que o flurbiprofem reduziu significativamente o grau de eritema e sangramento ($p < 0.001$) associado a uma diminuição dos níveis de TXB₂ ($p < 0.05$). Para analisar os efeitos do flurbiprofem sobre uma gengivite experimental estabelecida, o estudo foi continuado com o grupo placebo, até o 28^o dia. Este grupo foi dividido em dois grupos: 7 pacientes continuaram a tomar placebo e 7, receberam flurbiprofem 50mg até o 28^o dia. Todos os pacientes continuaram a abstenção dos cuidados de higiene oral. As comparações pré-tratamento (21 dias) e pós-tratamento (28 dias) mostraram que o flurbiprofem novamente inibiu de maneira significativa o grau de sangramento ($p < 0.00$), mas não afetou o grau de eritema. Os indivíduos controle demonstraram uma elevação significativa no sangramento gengival no 28^o dia, associada com aumentos significantes nos níveis de PGE₂ ($p < 0.001$), TXB₂ ($p < 0.01$) e LTB₄ ($p < 0.05$). O

flurbiprofem suprimiu os aumentos desses três mediadores entre o 21^o e 28^o dias. Com esses resultados, os autores concluíram que o flurbiprofem pode controlar a gengivite com ambas propriedades, preventiva e terapêutica no modelo de gengivite experimental, através da inibição dos metabólitos da COX e indiretamente, da lipoxigenase.

O efeito da aplicação tópica de flurbiprofem como coadjuvante no tratamento não cirúrgico da doença periodontal foi avaliado por Heasman et al.,²⁶ em 1993. Nesse estudo, 49 pacientes foram separados em grupo teste (25) que recebeu prescrição de pasta dental com 1% de flurbiprofem para ser utilizada 2 vezes ao dia durante os 12 meses e grupo controle (24) que recebeu uma pasta placebo. Durante o estudo, ambos os grupos receberam instrução de higiene oral e raspagem e alisamento radicular trimestralmente. Os escores de placa, escores de sangramento, fluxo de fluido do sulco gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção foram acessados no baseline, e aos 3, 6, 9 e 12 meses. Também foram realizadas radiografias no baseline e aos 12 meses. Aos 12 meses, houve uma melhora dos parâmetros clínicos para ambos os grupos sem diferença estatística entre os mesmos. Contudo, o grupo tratado com flurbiprofem demonstrou uma proporção significativamente maior de sítios com ganho ósseo (8.0%) em comparação com o grupo placebo (3.3%).

Ainda em 1993, Taiyeb & Waite,⁷⁵ investigaram a influência da terapia a curto prazo com ibuprofen sistêmico sobre a fase inicial do tratamento periodontal em 17 pacientes com periodontite crônica. Avaliações da higiene oral,

inflamação gengival e profundidade de sondagem foram realizadas a cada 2 semanas durante 2 meses. Todos os participantes receberam instrução de higiene oral e após o exame inicial receberam raspagem e alisamento radicular em metade da dentição. Após esse procedimento, eles foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos, um grupo teste que recebeu durante 14 dias 800 mg diárias de ibuprofen, e um grupo controle que não recebeu nenhum tipo de droga. 2 semanas após o tratamento com ibuprofen, uma redução significativamente maior no sangramento gengival, no eritema gengival e na profundidade de sondagem foi encontrada em ambos os lados da dentição (com ou sem raspagem) quando comparou-se com os parâmetros do grupo controle. Após esse período de 2 semanas os benefícios da terapia com ibuprofen sobre a inflamação gengival foram menos evidentes.

A eficácia do meclofenamato sódico (Meclomen®) como coadjuvante da raspagem e alisamento radicular, foi avaliada por Reddy et al.,⁶⁵ 1993. Nesse estudo, participaram 22 pacientes com periodontite agressiva e com sítios ativos determinados através de marcador radioativo (99m-technetium methileno difosfonado). Radiografias padronizadas foram realizadas no primeiro dia do experimento, e 3 e 6 meses após. Após a raspagem e alisamento radicular realizada em toda a boca, os indivíduos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: placebo, meclofenamato sódico 50mg ou meclofenamato sódico 100mg. A alteração óssea ocorrida durante os 6 meses e, determinada por subtração radiográfica, foi o primeiro determinante de eficácia. O grupo placebo apresentou

uma perda óssea de 0.42 ± 0.06 mm enquanto que os grupos tratados com meclofenamato sódico na baixa e na alta concentração apresentaram ganhos médios de osso de 0.07 ± 0.05 e 0.20 ± 0.07 mm, respectivamente.

O efeito sistêmico do flurbiprofem (100mg diariamente) administrado como coadjuvante da escovação dental no tratamento de gengivite experimental foi estudado por Heasman et al.,²⁷ 1994. Esse estudo duplo-cego teve a participação de 47 voluntários que se abstiveram de higiene dental por 21 dias. No 21^o dia, 23 pacientes receberam a prescrição de 100mg diárias de flurbiprofem enquanto que 24 pacientes receberam placebo. Em ambos os grupos, a higiene oral foi retomada no 21^o dia e todos os pacientes utilizaram a técnica de Bass por 2 minutos cada dia. Ambos os regimes de tratamento foram continuados por mais 7 dias. No dia 0 e no 21^o e 27^o dias foram acessados os índices de placa, gengival e o fluxo do fluido do sulco gengival. No 27^o dia, o grupo flurbiprofem demonstrou uma maior resolução da inflamação gengival, demonstrada por um menor índice gengival e fluxo do fluido crevicular, quando comparado ao grupo placebo (p=0.04).

Em 1995, Paolantonio et al.,⁶¹ analisaram o efeito da irrigação subgengival com 0.5 ml de ácido acetilsalicílico a 1% sob o número de leucócitos polimorfonucleares presentes em bolsas periodontais de profundidade média (5 a 7 mm) em 10 pacientes sistemicamente saudáveis após raspagem supragengival. A determinação do número de leucócitos, e o índice de sangramento gengival foram realizados em cada sítio experimental. Os sítios teste receberam irrigação

subgingival com ácido acetilsalicílico 4 vezes durante uma semana enquanto que os sítios controle receberam irrigação com soro fisiológico. Os resultados demonstraram ter havido uma diminuição do número de leucócitos polimorfonucleares nos sítios teste em comparação com os sítios controle embora não estatisticamente significante. Os escores de índice de sangramento gengival não apresentaram nenhuma alteração.

A eficácia clínica da irrigação supragengival com ácido acetilsalicílico tamponado 0.3%, como coadjuvante na terapia periodontal de suporte, foi avaliada por Flemmig et al.,¹⁶ 1995. Nesse estudo, 60 pacientes foram divididos aleatoriamente em um dos três tratamentos: (1) irrigação supragengival uma vez ao dia com 300 ml de água e subsequente irrigação com 200 ml de ácido acetilsalicílico tamponado 0.3%; (2) irrigação supragengival com 500 ml de água; (3) apenas higiene oral normal. Os parâmetros clínicos foram acessados no primeiro dia e 6 meses após. Aos 6 meses os resultados mostraram que ambas as irrigações supragengivais com água ou com ácido acetilsalicílico tamponado 0.3% reduziram significativamente os escores do índice gengival (medianas 0.1 e 0.35, respectivamente) e profundidade de sondagem (ambos com mediana de 0.26mm) comparados com o grupo controle. Além disso, a irrigação com água resultou em uma redução significativa do sangramento a sondagem (mediana 0.13), enquanto que a irrigação com ácido acetilsalicílico tamponado 0.3% não teve nenhum efeito significativo sobre o sangramento a sondagem quando comparada com o grupo controle.

A eficácia de um bochecho contendo o antiinflamatório ketorolac foi avaliada por Jeffcoat et al.,³⁵ 1995. 55 pacientes, com pelo menos 3 sítios com alto risco para perda óssea, acessada através de incorporação de marcador radioativo, foram divididos em 3 grupos de tratamento: (1) bochecho contendo o antiinflamatório ketorolac 0.1% e cápsulas placebo; (2) 50mg de flurbiprofem em cápsula (controle positivo) e bochecho placebo; (3) bochecho e cápsula placebo. Foram realizados exames mensais da condição gengival e do nível de PGE₂ presente no fluido do sulco gengival. Radiografias padronizadas foram realizadas no primeiro dia e aos 3 e 6 meses para posterior subtração digital. Uma perda significativa na altura óssea foi observada no grupo placebo (-0.63 ± 0.11 ; $p < 0.001$), mas não no grupo flurbiprofem (-0.10 ± 0.12 ; $p = 0.40$) ou no grupo bochecho com ketorolac ($+0.20 \pm 0.11$ mm; $p = 0.07$). Os grupos tratados com ketorolac ou com flurbiprofem tiveram uma menor perda óssea ($p < 0.01$) e reduzidos níveis de PGE₂ ($p < 0.01$) no fluido do sulco gengival comparado com o placebo. O bochecho com Ketorolac preservou mais osso alveolar do que o flurbiprofem sistêmico. Com relação ao índice gengival, todos os 3 grupos apresentaram uma diminuição significativa aos 6 meses ($p < 0.002$ Ketorolac; $p < 0.010$ Placebo; $p = 0.021$ Flurbiprofen) sem diferenças significantes entre eles.

O efeito da administração sistêmica de flurbiprofem 50 mg, três vezes ao dia, por 30 dias, sobre a cicatrização tecidual após procedimento de retalho modificado de Widman foi estudado, em 19 pacientes, por Brägger et al.,⁶ 1997. Dois sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 5mm após a

terapia inicial e sangramento à sondagem serviram como áreas cirúrgicas, enquanto 2 sítios similares não foram expostos à cirurgia. Durante a fase de cicatrização, 10 pacientes receberam flurbiprofem enquanto que 9 pacientes receberam placebo. O exame radiográfico consistiu de radiografias bitewings obtidas 1, 3 e 6 meses após o tratamento cirúrgico para posterior subtração radiográfica e análise da densidade óssea (CADIA) nas superfícies proximais. Mínima atividade de remodelação óssea foi observada radiograficamente após a cirurgia em ambos os grupos de pacientes. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os quatro grupos de sítios com relação às alterações médias na densidade quando as radiografias foram analisadas em pares 0 – 1, 0 – 3 e 0 – 6 meses. Uma redução significativa na profundidade de sondagem e uma quantidade significativa de ganho de inserção clínica nos sítios tratados cirurgicamente, independente se haviam recebido flurbiprofem ou placebo.

Em 1998, Preshaw et al.,⁶⁴ investigaram os efeitos de bochecho com ketorolac tópico (0.1%) sobre as concentrações de PGE₂ presentes no fluido do sulco gengival de 42 pacientes com periodontite crônica moderadamente avançada sem tratamento periodontal. O fluido do sulco gengival foi coletado de 6 sítios por paciente para medir através de teste radioimunoensaio os níveis de PGE₂. Apenas pacientes que apresentaram concentração média de PGE₂ > 30ng/ml participaram da fase de bochecho. Os pacientes selecionados realizaram bochecho placebo nas duas primeiras semanas (0-14^o dias), e bochecho com ketorolac (grupo teste, n=21) ou bochecho placebo (grupo controle, n=21) nas

próximas duas semanas (14^o - 28^o dias), e bochecho placebo nas duas últimas semanas (28^o - 42^o dias). As concentrações médias de PGE₂ foram calculadas para cada indivíduo nos dias 0, 14, 28 e 42, e as médias dos grupos foram comparadas. Observou-se que o bochecho com ketorolac controlou a elevação dos níveis de PGE₂ observada no grupo placebo mas na realidade não reduziu as concentrações de PGE₂.

De uma maneira geral, os AINEs têm se demonstrado promissores no tratamento periodontal. Contudo, não há conhecimento o suficiente para se recomendar o seu uso apropriado. Conceitualmente, acredita-se que os AINEs podem encontrar espaço na terapia de alguns tipos de doenças periodontais, principalmente as de forma agressiva ou refratárias. Mas, estudos clínicos controlados ainda são necessários para determinar a segurança e manutenção dos resultados obtidos com essa terapia em longo prazo.

Tabela 2- Uso de AINEs no tratamento da doença periodontal. Estudos em Humanos.

Autor Ano de Publicação País	Tipo de estudo Número (N) Período de estudo	AINE utilizado Regime terapêutico Associação com tratamento periodontal	Resultados
Waite et al. ⁷⁸ 1981 Inglaterra	Humanos/ estudo transversal retrospectivo/ grupo controle pareado (idade e índice de placa semelhantes) N = 44	AINEs por um período superior a um ano, para tratamento de artrite reumatóide	O grupo teste apresentava valores significativamente menores de índice gengival, menores profundidades de sondagem e, também uma tendência para menor perda de inserção em comparação com o grupo controle.
Feldman et al. ¹⁵ 1983 USA	Humanos/ estudo transversal retrospectivo/ grupo controle pareado (idade e número de dentes semelhantes) N = 150	Aspirina (10-12 comprimidos de 325 mg/dia) e/ou indometacina (2-10 comprimidos de 25mg/dia) há pelo menos 5 anos para tratamento de artrite reumatóide	A população que recebia terapia com AINEs apresentou menor número de sítios com perda óssea superior a 10%, em comparação com a população controle (P<0.05). A porcentagem média de perda óssea total também foi menor no grupo tratado, apesar de essa diferença não ter sido significativa.
Jeffcoat et al. ³⁵ 1988 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 15 Período = 2 meses	Flurbiprofem (50mg) Via oral, 1X/dia, 2 meses	A perda óssea ativa foi reduzida no osso alveolar de dentes em pacientes que receberam flurbiprofem (p<0.4), enquanto que nenhuma alteração significativa foi observada nos pacientes tratados com placebo. Houve uma perda óssea significativamente menor em pacientes tratados com flurbiprofem quando comparada com o grupo placebo (p<0.2).
Williams et al. ⁸⁵ 1989 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 44/56 concluíram o estudo Período = 28 meses	Flurbiprofem (50mg) Via oral, 2X/dia, 24 meses RAR a cada 6 meses	Aos 12 e 18 meses a taxa de perda óssea nos indivíduos tratados com flurbiprofem foi significativamente menor do que nos indivíduos tratados com placebo. Contudo, aos 24 meses de tratamento, não houve diferença em relação a taxa de perda óssea entre os dois grupos.
Heasman & Seymour ²³ 1989 Inglaterra	Humanos/ Gengivite experimental/ controle placebo N = 25 Período = 27 dias	Flurbiprofem (50mg) Via oral, 2X/dia, 6 dias Higiene bucal.	A redução no índice gengival ocorreu em todos os grupos entre o 22º e 27º dias. A diferença entre tratamentos foi pequena. Os efeitos da droga puderam ser verificados quando ela foi usada como tratamento único ou associado à escovação.
Heasman & Seymour ²⁴ 1990 Inglaterra	Humanos/ estudo transversal retrospectivo/ grupo controle pareado (idade e sexo semelhantes) N = 92	AINEs por um período médio de 9 anos, para tratamento de artrite reumatóide	Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos quanto ao índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem, perda de inserção, recessão gengival e perda óssea radiográfica. Contudo, uma diferença altamente significativa foi encontrada quanto ao fluxo do fluido gengival no grupo tratado (16.74 + 10.61) e grupo controle (37.72 + 28.63) com p<0.0001.
Johnson et al. ³⁷ 1990 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 102/114 concluíram o estudo Período = 30 dias	Naprosyn (500mg) Via oral, 2X/dia, 30 dias Profilaxia/ RAR no 28º dia	No 28º dia, observou-se que a terapia com naprosyn não resultou em melhoras significantes nos escores de índice de placa ou de inflamação gengival. Após a remoção da placa bacteriana, houve uma melhora estatisticamente significativa da inflamação gengival quando comparada com o grupo placebo.

Tabela 2- Uso de AINEs no tratamento da doença periodontal. Estudos em Humanos. Continuação.

Autor Ano de Publicação País	Tipo de estudo Número (N) Período de estudo	AINE utilizado Regime terapêutico Associação com tratamento periodontal	Resultados
Jeffcoat et al. ³⁴ 1991 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 15 Período = 3 meses	Naproxen (500mg) Via oral, 1x/dia, 3 meses RAR prévia	Houve uma perda óssea alveolar significativamente menor, nos pacientes tratados com naproxen (p<0.001). A taxa de perda óssea foi significativamente reduzida em pacientes que receberam naproxen (p<0.03), enquanto nenhuma alteração significante foi encontrada nos pacientes tratados com placebo. Além disso, o grupo tratado com naproxen apresentou um ganho ósseo.
Abramson et al. ¹ 1992 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 21 Período = 3 meses	Flurbiprofem (100mg) Via oral, 3X/dia, 42 dias	O grupo tratado com flurbiprofem apresentou um significante decréscimo no nível médio de PGE2 e de TXB2. Este efeito não foi mantido após o término da terapia com a droga. Os níveis desses metabólitos voltaram aos mesmos níveis do primeiro dia, 7 dias após o encerramento da terapia com flurbiprofem.
Heasman et al. ²⁵ 1993 Inglaterra	Humanos/ Gengivite experimental/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 21 Período = 28 dias	Flurbiprofem (50mg) Via oral, 1X/dia, 21 dias (terapia preventiva) ou 7 dias (terapia curativa)	O flurbiprofem reduziu significativamente o grau de eritema e sangramento (p<0.001) associado a uma diminuição dos níveis de PGE2, TXB2 e LTB4 de TXB2, tanto na terapia preventiva quanto na terapia curativa no modelo de gengivite experimental.
Heasman et al. ²⁶ 1993 Inglaterra	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 46/49 concluíram o estudo Período = 12 meses	Flurbiprofem 1% pasta dental Aplicação tópica, 2X/dia, 12 meses RAR trimestrais	Houve uma melhora dos parâmetros clínicos para ambos os grupos sem diferença estatística entre os mesmos. Contudo, o grupo tratado com flurbiprofem demonstrou uma proporção significativamente maior de sítios com ganho ósseo (8.0%) em comparação com o grupo placebo (3.3%).
Taiyeb & Waite ⁷⁵ 1993 Cingapura	Humanos/ distribuição aleatória N = 17 Período = 8 semanas	Ibuprofen (200 mg) Via oral, 4X/dia, 14 dias RAR	2 semanas após o tratamento com ibuprofen, houve uma redução significativamente maior no sangramento gengival, no eritema gengival e na profundidade de sondagem comparada aos parâmetros do grupo controle. Após esse período de 2 semanas os benefícios da terapia com ibuprofen sobre a inflamação gengival foram menos evidentes.
Reddy et al. ⁶⁵ 1993 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 22 Período = 6 meses	Meclofenamato sódico (50mg ou 100mg) Via oral, 1X/dia, 6 meses RAR prévia	O grupo placebo apresentou uma perda óssea de 0.42 ± 0.06 mm e os grupos tratados com meclofenamato sódico, em ambas concentrações, apresentaram ganhos médios de osso.
Heasman et al. ²⁷ 1994 Inglaterra	Humanos/ Gengivite experimental/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 47 Período = 27 dias	Flurbiprofem (50mg) Via oral, 2X/dia, 7 dias Higiene dental supervisionada - Técnica de Bass	No 27º dia, o grupo flurbiprofem demonstrou uma maior resolução da inflamação gengival quando comparado ao grupo placebo (p=0.04).

Tabela 2- Uso de AINEs no tratamento da doença periodontal. Estudos em Humanos. Continuação

Autor Ano de Publicação País	Tipo de estudo Número (N) Período de estudo	AINE utilizado Regime terapêutico Associação com tratamento periodontal	Resultados
Paolantonio et al. ⁶¹ 1995 Itália	Humanos/ distribuição aleatória/ controle placebo N = 10 Período = 27 dias	Ácido acetilsalicílico 1% Irrigação subgengival, 4 vezes/semana, 7 dias Raspagem supragengival prévia	Houve uma diminuição do número de PMNs nos sítios teste em relação aos sítios controle, embora não estatisticamente significativa. O índice de sangramento gengival não foi alterado.
Flemmig et al. ¹⁶ 1995 Alemanha	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 60 Período = 6 meses	Ácido acetilsalicílico tamponado 0.3%; Irrigação supragengival, 1X/dia, 6 meses RAR prévia	Ambas as irrigações, com água ou com ácido acetilsalicílico tamponado 0.3%, reduziram significativamente os escores do índice gengival e profundidade de sondagem comparados com o grupo controle. A irrigação com água resultou em uma redução significativa do sangramento a sondagem, enquanto que a irrigação com ácido acetilsalicílico tamponado 0.3%, não.
Jeffcoat et al. ³⁵ 1995 USA	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 55 Período = 6 meses	Ketorolac 0.1% bochecho ou flurbiprofem (50mg) Via oral ou bochecho, 2X/dia, 6 meses	Os grupos tratados com ketorolac ou com flurbiprofem tiveram uma menor perda óssea (p< 0.01) e reduzidos níveis de PGE2 (p<0.01) no fluido do sulco gengival comparado com o placebo. O bochecho com Ketorolac preservou mais osso alveolar do que o flurbiprofem sistêmico.
Brägger et al. ⁶ 1997 Suíça	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 19 Período = 30 dias	Flurbiprofem (50 mg) Via oral, 3X/dia, 30 dias Tratamento cirúrgico prévio (retalho para RAR)	Mínima atividade de remodelação óssea foi observada radiograficamente após a cirurgia em ambos os grupos de pacientes. Não houve diferenças estatisticamente significantes com relação às alterações médias na densidade óssea. Redução significativa na profundidade de sondagem e significativo ganho de inserção clínica, foram encontrados nos sítios tratados cirurgicamente, independente se haviam recebido flurbiprofem ou placebo.
Preshaw et al. ⁶⁴ 1998 Inglaterra	Humanos/ distribuição aleatória/ duplo-cego/ controle placebo N = 42 Período = 42 dias	ketorolac tópico (0.1%) Bochecho, 2X/dia, 2 semanas	O bochecho com ketorolac controlou a elevação dos níveis de PGE2 observada no grupo placebo mas na realidade não reduziu as concentrações de PGE2.

2.4 -Celecoxib

Nos anos 70, estudos bioquímicos levaram a caracterização da enzima COX e ao estabelecimento das bases moleculares para o mecanismo de inibição de muitos AINEs. Até então, acreditava-se na existência de apenas um gene e uma proteína COX. Mas, a partir dos anos 90, estudos biológicos da atividade da COX, levaram à descoberta da existência de duas isoformas de COX. A primeira enzima descrita, a COX-1, estaria presente em quantidades relativamente constantes em quase todas as células e tecidos e seria responsável pela síntese basal de prostaglandinas em condições fisiológicas. A outra enzima descoberta, a COX-2, seria aumentada por citocinas inflamatórias e proliferação celular e, responsável pela síntese aumentada de prostaglandinas em condições patológicas (Jouzeau et al.,³⁸ 1997). Estudos de enzimas recombinantes *‘in vitro’* e, em células, têm demonstrado que os AINEs inibem a atividade de ambas COX-1 e COX-2, isoformas distintas de COX (Gierse et al.,¹⁹ 1995). Comprovou-se que a inibição da COX-1 é a responsável pelos danos gastro-intestinais e das plaquetas (Masferrer et al.,⁴⁵ 1996) e, que a inibição da COX-2 é a responsável pelos benefícios terapêuticos, mais precisamente, pelas propriedades analgésicas, antipiréticas e antiinflamatórias (Anderson et al.,³ 1996; Davies et al.,⁷ 2000; Seibert et al.,⁷¹1994).

Apesar da inegável semelhança bioquímica, as enzimas COX-1 e COX-2 apresentam diferenças quanto à seqüências de aminoácidos. Essa

descoberta abriu novas e interessantes possibilidades de intervenção terapêutica, como inibições específicas e seletivas de COX-2 (Hawkey,²¹ 1999).

O celecoxib (4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluormetil)-1H-pirazol-1-yl] benzenosulfonamida, Figura 1), foi a primeira droga inibidora específica da COX-2 a ser aprovada pela FDA americana, em dezembro de 1998 (Davies et al.,⁷ 2000).

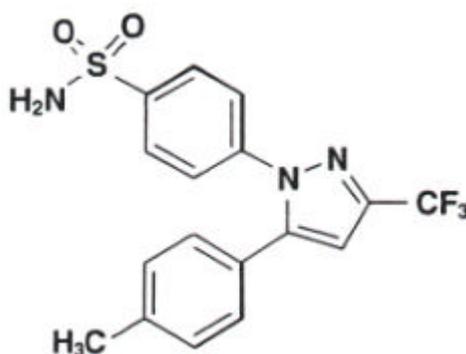


FIGURA 1- Estrutura química do celecoxib.

De acordo com Simon et al.,⁷² 1998, o celecoxib é um potente inibidor da síntese de prostaglandinas e, tem sido utilizado eficazmente no tratamento de pacientes com artrite reumatóide e osteoartrite. Níveis plasmáticos máximos de celecoxib ocorrem aproximadamente 3 horas após a administração oral e, são proporcionais à dose administrada (100 ou 200 mg). Uma vez no plasma, o celecoxib é altamente ligado a proteínas (~97%), principalmente albuminas e, é metabolizado pelo citocromo P450 2C9. Três metabólitos inativos como inibidores COX-1 ou COX-2, um álcool primário, o ácido carboxílico

correspondente e seu conjugado glicuronido, resultam de seu metabolismo. Finalmente, cerca de 11 horas após sua administração sob condições de jejum, o celecoxib é eliminado predominantemente por metabolismo hepático (Davies et al.,⁷ 2000).

A especificidade do celecoxib na inibição da COX-2 resulta de sua habilidade em ocupar uma região adicional dentro do sítio de ligação ao substrato da COX-2, a qual não está presente na COX-1. Na realidade, conforme demonstrado por estudos *in vitro* com enzimas recombinantes humanas, a inibição da COX-2 pelo celecoxib é cerca de 300 a 2000 vezes a inibição da COX-1 (Bensen,⁴ 2000).

A habilidade do celecoxib em diferenciar entre as duas isoformas da COX, como demonstrado por estudos *in vitro*, traduz a especificidade da inibição da COX-2 *in vivo* (Bensen,⁴ 2000). Desse modo, concentrações de celecoxib, com máxima capacidade inibitória sobre a formação de prostaglandinas derivadas da COX-2, resultam em pouco ou nenhum efeito sobre a formação de prostaglandinas derivadas da COX-1 na mucosa gastrointestinal ou nas plaquetas (Davies et al.,⁷ 2000).

Estudos clínicos avaliaram endoscopicamente a segurança gastrointestinal da utilização de celecoxib em comparação com outros AINEs, em pacientes com artrite reumatóide. No estudo de Simon et al.,⁷³ em 1999, 1149 pacientes receberam celecoxib (100, 200 ou 400 mg), naproxen 500mg ou, placebo, durante 12 semanas. A porcentagem de úlceras gastrointestinais

encontrada para o grupo que recebeu naproxen foi significativamente maior em relação aos grupos que receberam celecoxib ou placebo ($p < 0.001$). Em outro estudo, de Emery et al.,¹⁴ 1999, 430 pacientes receberam 200 mg de celecoxib ou 75 mg de diclofenaco por 24 semanas. A incidência total de úlceras gastrointestinais foi de 4% para o grupo celecoxib e de 15% para o grupo diclofenaco, novamente demonstrando diferença estatisticamente significativa ($p < 0.001$). Os resultados destes estudos, dentre outros, confirmam a baixa associação do celecoxib com o aparecimento de úlceras gastrointestinais.

Tibble et al.,⁷⁷ 2000, demonstraram que, em ratos, a tolerância gastrointestinal demonstrada após terapia com celecoxib (30 ou 300 mg/kg de peso corporal), deve-se não somente pela ausência de efeitos sobre os níveis de prostaglandinas intestinais, como também pela ausência de efeitos tópicos do celecoxib sobre a mucosa intestinal.

No entanto, Mizuno et al.,⁴⁷ em 1997, induziram, experimentalmente, erosões e ulcerações na mucosa gástrica de ratos e, examinaram os efeitos da administração, a longo prazo, de um inibidor específico da COX-2 sobre essas úlceras. Os autores demonstraram que a COX-2 pode estar fortemente ativada em sítios de ulceração gastrointestinal e que, nessas circunstâncias, a inibição seletiva da COX-2 pode levar a exacerbação da ulceração e interferir com a cicatrização.

Muscará et al.,⁴⁹ em 2000, implantaram cirurgicamente discos esponjosos estéreis no dorso de ratos e, avaliaram 5 dias após, os efeitos da

administração oral de celecoxib (10mg/kg de peso corporal) sobre a deposição de colágeno nessas esponjas. No entanto, contrariamente ao esperado, os resultados desse estudo, demonstraram que o celecoxib não afetou a deposição de colágeno.

A divergência entre os achados desses dois estudos^{47,49} pode ser devida as diferenças quanto aos níveis de colonização bacteriana da úlcera gástrica, a qual pode ter sido exposta a substâncias ingeridas pelos ratos, *versus* a lesão no dorso dos ratos, que foi produzida sob condições assépticas. Dr. John L. Wallace* hipotetizou que, no local de uma infecção, a presença exacerbada de endotoxinas poderia levar à indução da COX-2. Dessa forma, a inibição da COX-2 poderia interferir com a cicatrização dessa região afetada.

Recentemente, essa hipótese foi comprovada por Morton & Dongari-Bagtzoglou,⁴⁸ 2001, que demonstraram imunohistoquimicamente que amostras gengivais com elevados níveis de infiltrado inflamatório continham uma alta expressão da COX-2. Além disso, observaram que um inibidor seletivo da COX-2, NS-398, resultou em bloqueio da síntese “*in vitro*” de PGE₂ por fibroblastos humanos estimulados por citocinas como a IL-1 e constituintes bacterianos.

A relação entre a concentração plasmática do celecoxib e seus efeitos farmacológicos foi avaliada em animais por alguns autores.^{74,79} Segundo Smith et al.,⁷⁴ 1998, a administração oral de celecoxib (10mg/kg de peso corporal)

*WALLACE, J. L. (Depto. de Farmacologia e Terapêutica, Universidade de Calgary, Alberta, Canada) Comunicação pessoal, 2001.

resultou em uma concentração plasmática de 6 µg/ml (medida por HPLC), confirmando sua biodisponibilidade e exposição no sangue de ratos. Além disso, demonstrou-se, nesse estudo, que o celecoxib inibiu a inflamação aguda e a hiperalgesia, advindas de modelo de inflamação induzida pela injeção de 0,1 ml de carrageenan 1% na pata traseira de ratos. Em estudo similar, Wallace et al.,⁷⁹ 1999, observaram que a administração oral de celecoxib (10mg/kg de peso corporal) levou à supressão da produção de prostaglandinas E₂, em modelo de inflamação induzida por injeção de 2 ml de solução de carrageenan 1% em cavidade de ar no dorso de ratos.

No entanto, de acordo com Davies et al.,⁷ 2000, a relação entre os efeitos analgésicos e antiinflamatórios com a concentração plasmática do celecoxib, ainda não está bem estabelecida em humanos. Ainda, outros estudos sobre a utilização de celecoxib são necessários para melhorar o entendimento sobre os riscos e benefícios da inibição da COX-2 comparados com os da inibição não-seletiva pelos demais AINEs.

3. Proposição

Avaliar o desenvolvimento de doença periodontal induzida por ligadura em ratos submetidos à administração sistêmica de celecoxib 10mg ou 20mg/kg de peso corporal.

4. Material e método

4.1 - Animais

No presente trabalho foram utilizados cento e oitenta ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Holtzman) machos, pesando aproximadamente 100g, provenientes do biotério central da UNESP, Câmpus de Araraquara. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, separados de acordo com o grupo experimental e, alimentados com ração e água *ad libitum*.

4.2 -Anestesia

Os animais receberam anestesia geral, obtida com injeção intraperitoneal de 0,08ml/100g por peso corporal de ketamina* e 0,04ml/100g por peso corporal de cloridrato de xilazina**. Nos casos em que não obteve-se a necessária profundidade do efeito anestésico desejado, a anestesia foi suplementada com a metade da dose inicial aplicada.

*Francotar®, Virbac do Brasil Ind. e Com. LTDA

**Virbaxyl 2%, Virbac do Brasil Ind. e Com. LTDA

4.3 - Indução da doença periodontal

Após anestesia geral, os animais foram posicionados em mesa operatória apropriada (Figura 2), a qual permitiu a manutenção da abertura bucal

dos ratos facilitando o acesso aos dentes da região posterior da mandíbula (Figura 3). Com o auxílio de uma pinça modificada (Figura 4) e de uma sonda exploradora (Figura 5), foi colocado um fio de algodão número 24, marca Corrente, ao redor dos primeiros molares inferiores do lado direito (Figura 6). Esta ligadura atuou como irritante gengival e favoreceu o acúmulo de placa bacteriana.³⁶ Os primeiros molares inferiores do lado esquerdo não receberam a colocação de ligadura e, serviram como controle (controle sem ligadura).

FIGURA 2- Posicionamento do rato na mesa operatória.

FIGURA 3- Acessibilidade ao campo operatório alcançada com a abertura bucal e afastamento da língua do animal.

FIGURA 4 - Pinça modificada.

FIGURA 5- Colocação do fio de algodão com o auxílio de uma sonda exploradora e da pinça modificada.

FIGURA 6- Fio posicionado ao redor do primeiro molar inferior do rato.

4.4 -Celecoxib

O celecoxib***, originalmente em cápsulas para administração oral (100 mg/cápsula ou 200mg/cápsula), foi diluído em 10 ml de água destilada, com concentração final de 10mg/ml. Esta solução era preparada momentos antes de sua administração e, acondicionada em ependorfs.

4.5 -Grupos experimentais

No primeiro dia após a colocação da ligadura, os ratos foram aleatoriamente distribuídos em um dos seguintes grupos experimentais (cada grupo era composto por 60 ratos):

- Grupos Ce1 e Ce2: o celecoxib foi administrado na concentração de 10 mg (Ce1) e 20 mg (Ce2)/ kg de peso corporal/ dia, por via oral.^{74,79} A administração oral foi realizada uma vez ao dia, com o auxílio de uma seringa de 1ml, sem agulha.

- Grupo Controle: os animais desse grupo foram tratados de forma similar aos anteriores, com solução de NaCl a 0,9%. A administração oral foi realizada uma vez ao dia, com o auxílio de uma seringa de 1ml, sem agulha.

***Searle , Monsanto do Brasil S. A., São Paulo, SP – Brasil

4.6 -Períodos experimentais

Aos 3, 5, 10, 18 e 30 dias após o início do tratamento, 12 ratos de cada grupo experimental (Controle, Ce1 e Ce2) foram sacrificados por meio de injeção intraperitoneal de hidrato de cloral 10% na dosagem de 2ml/100g de peso corporal. Logo após o sacrifício, a mandíbula de cada animal foi removida, separada em duas hemimandíbulas e fixadas em formol tamponado a 10 %. A tabela 3 resume a cronologia do experimento.

Tabela 3- Cronologia do experimento

	Dia 0	Dia 3	Dia 5	Dia 10	Dia 18	Dia 30
Colocação das ligaduras	+					
Checagem das ligaduras		+	+	+	+	+
Sacrifício		+	+	+	+	+

+ significa que o procedimento foi realizado no período indicado

4.7 -Análise macroscópica

As análises macroscópicas de cada hemimandíbula foram realizadas com o auxílio de lupa estereoscópica Zeiss com aumento de 20 x. Foram observadas modificações de contorno, volume ou posição da gengiva dos primeiros molares inferiores.

4.8 -Análise radiográfica

As tomadas radiográficas das hemimandíbulas (direita e esquerda) foram realizadas através do uso de um sistema de imagem digital computadorizado, CDR* que utiliza um sensor eletrônico ao invés de filme radiográfico. Os sensores eletrônicos foram expostos a 65KVvp e 10mA com tempo de exposição de 12 impulsos/segundo, utilizando um aparelho de R-X**. A distância foco/filme foi padronizada em 50 cm. Após as tomadas radiográficas, as radiografias digitais foram analisadas com auxílio de um software pertencente ao próprio sistema CDR. Foram realizadas para cada radiografia 3 mensurações da medida linear (em mm) da distância da junção cimento-esmalte até a crista óssea alveolar do lado mesial dos primeiro molares inferiores de cada rato. (Figura 7)

*Computed Dental Radiography for Microsoft Windows, Shick Technologies, Inc., Dialom Dental Products

**GE1000

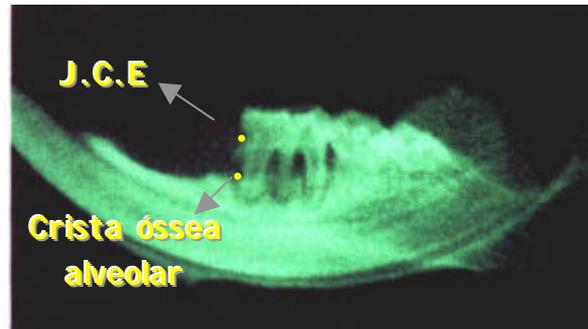


FIGURA 7- Representação esquemática da localização da junção cimento-esmalte (J.C.E.) e da crista óssea alveolar, em superfície mesial de primeiro molar inferior de rato, em imagem radiográfica.

4.9 -Análise microscópica

Após fixação em formol tamponado a 10%, durante 48 horas, as hemimandíbulas foram desmineralizadas em solução de Morse (50 ml de ácido fórmico a 50% e 50 ml de citrato de sódio a 20%) durante 2 meses, para posterior inclusão em parafina. Foram realizados cortes seriados com 4 µm de espessura, na direção vestibulo-lingual os quais, foram corados com H.E. (hematoxilina/eosina).

As lâminas foram analisadas com o auxílio de um microscópio de luz transmitida comumente para observações morfológicas dos seguintes parâmetros: intensidade de inflamação aguda e inflamação crônica, grau de necrose tecidual, grau de reabsorção óssea alveolar (em altura e em espessura), número de osteoclastos e calibre e quantidade de vasos sanguíneos. Esta análise foi realizada por vestibular em pelo menos 3 lâminas de cada um dos espécimes com ligadura dos grupos controle, celecoxib 10 mg (Ce1) e celecoxib 20 mg (Ce2) nos períodos de 5, 18 e 30 dias. Para comparações entre os grupos e entre os períodos, acrescentou-se uma avaliação quantitativa dos cortes analisados quanto ao grau de acometimento das alterações histopatológicas encontradas. Esta quantificação foi subjetiva sendo classificada da seguinte maneira:

escore 0 - ausente;

escore 1: grau discreto;

escore 2: grau moderado

escore 3: grau intenso

Para cada animal, foi realizada uma média dos escores encontrados em cada um dos cortes analisados. O escore médio de cada animal de cada grupo/período foi submetido à análise estatística.

4.10 -Análise estatística

Foi obtido um valor médio de perda óssea para os 3 exames de cada radiografia do primeiro molar mandibular, lado direito (com ligadura) e lado esquerdo (sem ligadura). O teste não-paramétrico Kruskal Wallis⁸⁶ foi utilizado para comparar a diferença de perda óssea ocorrida entre os grupos de tratamento (Controle, Ce1 and Ce2) em cada período de tempo (3, 5, 10, 18 e 30 dias), e para comparar as diferenças entre os períodos de tempo em um mesmo grupo.

Para cada uma das alterações histopatológicas, realizou-se a análise estatística com o teste não paramétrico Kruskal- Wallis para avaliar as variações dos escores entre períodos (5 dias X 18 dias X 30 dias) para cada grupo (Controle, Ce1 e Ce2) e entre grupos (Controle x Ce1 X Ce2) em cada período (5 dias, 18 dias e 30 dias).

5.Resultado

5.1 -Análise macroscópica

5.1.1 - Dentes primeiros molares inferiores sem ligadura

Nas amostras obtidas dos animais pertencentes aos grupos controle, Ce1 e Ce2, não foram observadas modificações de contorno, volume ou posição da gengiva (Figura 8) em nenhum dos períodos avaliados.

FIGURA 8- Aspecto macroscópico de dente primeiro molar inferior sem ligadura;

5.1.2 - Dentes primeiros molares inferiores com ligadura

Após a colocação da ligadura, as características macroscópicas da gengiva modificaram-se gradativamente nos períodos experimentais usados

nesse trabalho. (Figuras 9 a 13) Em todos os períodos, a ligadura favoreceu o acúmulo de grande quantidade de restos alimentares e a eventual formação de biofilme bacteriano. A alteração macroscópica mais evidente foi o aumento de volume da gengiva, da face vestibular dos primeiros molares inferiores, com a presença de aumento de volume, recobrando grande parte do fio de algodão da ligadura, facilmente observáveis a partir do período experimental de 5 dias. Na face lingual, o aumento de volume gengival não foi pronunciado, situando-se a margem gengival abaixo de sua posição normal. Nos grupos de períodos experimentais maiores (Figuras 12 e 13), as porções cervicais das raízes estavam expostas e, houve envolvimento de furcas e exposição das raízes até o terço médio. A papila interdental entre os primeiros e segundos molares apresentou superfície achatada ou côncava, devido a ligadura, perdendo sua forma piramidal característica.

Os grupos controle, Ce1 e Ce2 não apresentaram diferenças quanto às características macroscópicas encontradas.

FIGURA 9- Aspecto macroscópico de dente primeiro molar inferior com ligadura, aos 3 dias;

FIGURA 10- Aspecto macroscópico de dente primeiro molar inferior com ligadura, aos 5 dias;

FIGURA 11- Aspecto macroscópico de dente primeiro molar inferior com ligadura, aos 10 dias;

FIGURA 12- Aspecto macroscópico de dente primeiro molar inferior com ligadura, aos 18 dias;

FIGURA 13- Aspecto macroscópico de dente primeiro molar inferior com ligadura, aos 30 dias;

5.2 -Análise radiográfica

5.2.1 - Efeito do celecoxib sobre a perda óssea observada radiograficamente

O presente trabalho demonstrou a influência da colocação de ligadura sobre a reabsorção óssea alveolar, verificada radiograficamente, na superfície mesial de primeiros molares inferiores de ratos. Com exceção do período experimental de 3 dias, em todos os demais períodos (5, 10, 18 e 30 dias) foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0.01$) com relação a reabsorção óssea entre dentes com ligadura e dentes sem ligadura, em todos os grupos experimentais analisados (Controle, Ce1 e Ce2).

O período de avaliação (3, 5, 10, 18 e 30 dias) também demonstrou influência sobre a reabsorção óssea alveolar. Ocorrência de variações significativas ($p < 0.0001$) de reabsorção óssea, segundo o período de avaliação, foi encontrada em todos os dentes com ligadura de animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais. As comparações pareadas entre períodos, demonstraram que em todos os grupos, a reabsorção óssea alveolar, encontrada aos 18 e aos 30 dias de experimento, foi estatisticamente superior em relação a reabsorção óssea encontrada aos 3 dias.

Com relação à influência do tratamento recebido (Controle, Ce1 ou Ce2) sobre a reabsorção óssea determinada radiograficamente, apenas nos períodos de 5 e 18 dias foi verificada influência significativa. Aos 5 dias o grupo controle apresentou reabsorção óssea significativamente maior do que os grupos

que receberam 10 e 20 mg da droga ($p=0.005$, para ambos); aos 18 dias, houve diferença estatisticamente significativa entre a perda óssea do grupo controle em relação ao grupo que recebeu 20 mg da droga ($p=0.004$). Além disso, o tratamento também influenciou o início da ocorrência de reabsorções ósseas estatisticamente superiores em relação ao período inicial de 3 dias. Observou-se que, enquanto no grupo controle, esta diferença pôde ser considerada estatisticamente superior logo aos 5 dias de experimento, para os demais grupos, tratados com celecoxib, as mesmas puderam ser verificadas apenas aos 10 dias após a indução de doença periodontal.

As médias de perda óssea radiográfica observada aos 3, 5, 10, 18 e 30 dias na superfície mesial de dentes com ou sem ligadura, dos animais pertencentes a cada grupo experimental, bem como as diferenças estatísticas entre as mesmas, estão apresentados na Tabela 4 e na Figura 14.

Tabela 4- Distâncias radiográficas, em *mm*, entre a junção cimento-esmalte e a crista óssea alveolar, encontradas na superfície mesial de dentes, com ou sem ligadura, de ratos pertencentes aos diferentes grupos experimentais em cada um dos períodos analisados, com dados expressos em média \pm desvio-padrão

GRUPO	Dentes	3 dias	5 dias	10 dias	18 dias	30 dias
Controle	c/ ligadura	0.11 ± 0.10	0.14 ± 0.08	0.13 ± 0.12	0.21 ± 0.08	0.170 ± 0.06
	s/ ligadura	0.33 ± 0.35	0.80 ± 0.33 ^{ab}	0.80 ± 0.33 ^a	1.40 ± 0.45 ^{abc}	1.17 ± 0.44 ^{ac}
Ce1	c/ ligadura	0.13 ± 0.11	0.11 ± 0.12	0.24 ± 0.13	0.28 ± 0.13	0.31 ± 0.15
	s/ ligadura	0.20 ± 0.22	0.40 ± 0.43 ^{ad}	0.60 ± 0.52 ^{ac}	1.30 ± 0.51 ^{ac}	1.50 ± 0.29 ^{ac}
Ce2	c/ ligadura	0.07 ± 0.03	0.09 ± 0.08	0.13 ± 0.12	0.23 ± 0.13	0.11 ± 0.09
	s/ ligadura	0.11 ± 0.10	0.40 ± 0.34 ^{ad}	0.70 ± 0.48 ^{ac}	0.80 ± 0.27 ^{acd}	1.10 ± 0.46 ^{ac}

Diferenças estatísticas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p < 0.05$:

^a Diferença significativa em relação ao lado sem ligadura, no mesmo grupo e período avaliado.

^b Diferença significativa em relação ao período anterior, no mesmo grupo experimental avaliado.

^c Diferença significativa em relação ao período de 3 dias, no mesmo grupo experimental avaliado.

^d Diferença significativa em relação ao grupo controle com ligadura, no mesmo período avaliado.

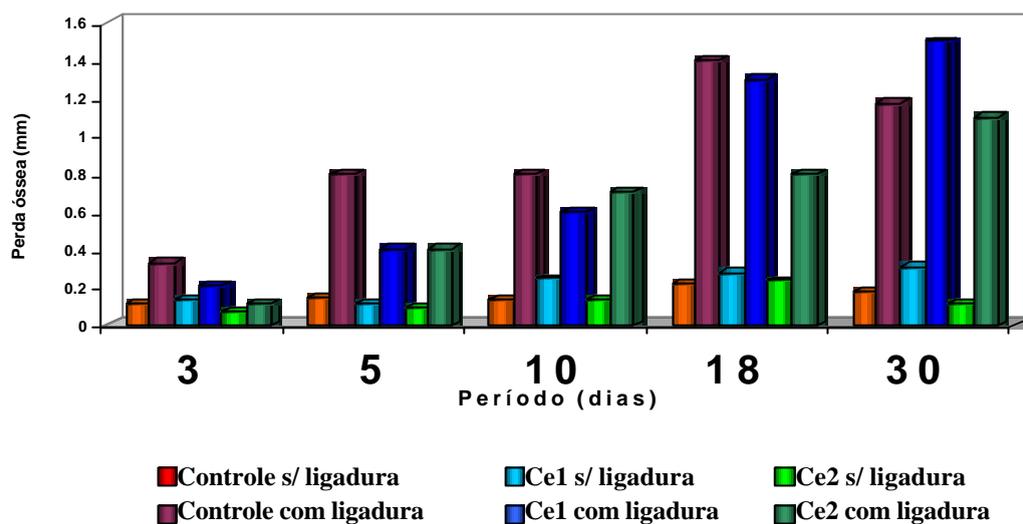


FIGURA 14- Perda óssea média, em *mm*, dos diferentes grupos experimentais em cada um dos períodos analisados.

5.3 - Análise microscópica

As principais características microscópicas da gengiva da face vestibular dos animais dos grupos Controle, Ce1 e Ce2 (Figuras 15 a 33) e, a análise quantitativa, porém subjetiva, das alterações histopatológicas ocorridas nos grupos tratados com ligadura de fio de algodão, serão abordadas separadamente.

5.3.1 - Características microscópicas

5.3.1.1 - Periodonto dos dentes sem ligadura

A gengiva da face vestibular do primeiro molar inferior direito estava formada de epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, com exceção da porção que participava da junção dentogengival (Figuras 15 e 16). Entre as células do epitélio juncional, havia pequeno número de neutrófilos e o corion gengival subjacente apresentava infiltrado inflamatório, com neutrófilos como leucócitos predominantes. Projeções epiteliais para o conjuntivo, delimitavam áreas que continham estruturas vasculares e células inflamatórias, especialmente neutrófilos. O ligamento periodontal e o septo ósseo estavam íntegros. O tecido ósseo era compacto e pouco trabeculado, e continha osteócitos em seu interior. Osteoblastos perfilados e poucos osteoclastos recobriam sua superfície.

FIGURA 15- Fotomicrografia ilustrando as características dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior esquerdo não submetido à colocação de ligadura. Note o aspecto de normalidade do periodonto (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 16- Aumento de 10 X da região lingual (à esquerda do dente) da Fig. 15, mostrando área dento-gengival saudável (H & E).

5.3.1.2 - Periodonto dos dentes com ligadura, grupo controle, aos 5 dias

A gengiva da face vestibular do primeiro molar inferior apresentava-se com desorganização do epitélio e, inflamação, contendo leucócitos polimorfonucleares, fibroblastos e vasos dilatados. No tecido ósseo, a face voltada para as fibras periodontais mostrava extensas áreas de reabsorção, enquanto a face externa da tábua óssea estava recoberta pelo periósteo em franca atividade de reabsorção. O terço cervical do cemento e da raiz mesial estava exposto em todos os casos, com sinais de reabsorção. A região radicular cervical exposta e a inflamação gengival, de grande extensão se apresentava com células inflamatórias mononuclear. O septo ósseo apresentava-se com acentuada reabsorção. (Figuras 17 a 19)

FIGURA 17- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 5 dias após a colocação de ligadura em animal do grupo controle, mostrando na região vestibular (à esquerda) infiltrado inflamatório severo. Observa-se reabsorção do osso alveolar e um grande número de osteoclastos (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 18- Aumento de 20 X da região vestibular da Fig. 17, mostrando em maiores detalhes o infiltrado inflamatório formado, principalmente, por células mononucleares, presentes tanto na gengiva quanto no ligamento periodontal.

FIGURA 19- Aumento de 100 X da Fig.17, com maiores detalhes do osso alveolar vestibular, mostrando os osteoclastos em processo de reabsorção óssea ativa e, a presença de numerosos vasos sanguíneos no conjuntivo subjacente.

5.3.1.3 - Periodonto dos dentes com ligadura, grupos Ce1 e Ce2, aos

5 dias

A gengiva da face vestibular do primeiro molar inferior do grupo Ce2 (Figuras 22 e 23) apresentava-se com sinais de desorganização, porém em menores proporções que o grupo controle e do grupo Ce1 (Figuras 20 e 21), preservando o arcabouço epitelial e o corion gengival. Não observou-se áreas necróticas nos dois grupos. A inflamação gengival era composta por células leucocitárias mononucleares, figuras vasculares dilatadas e comparativamente menos intensas que o grupo controle. O tecido ósseo ainda permanecia com sua estrutura parcialmente intacta, e a face voltada para as fibras periodontais era composta por áreas de reabsorção, com a presença de osteoclastos, porém em menores proporções que o controle.

FIGURA 20- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 5 dias após a colocação de ligadura em animal tratado com 10mg/kg celecoxib, mostrando na região vestibular (à esquerda), preservação do arcabouço epitelial e do processo alveolar e, discreto infiltrado celular (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 21- Aumento de 10 X da região vestibular da Fig. 20. Note o discreto infiltrado inflamatório formado, principalmente, por células mononucleares.

FIGURA 22- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 5 dias após a colocação de ligadura em animal tratado com 20mg/kg celecoxib, mostrando na região vestibular (à esquerda), maior preservação do arcabouço epitelial e do processo alveolar e, discreto infiltrado celular (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 23- Maiores detalhes da região da crista óssea alveolar na superfície vestibular do dente da Fig. 22. Note a ausência de osteoclastos e a presença de discreto infiltrado inflamatório no conjuntivo subjacente (Aumento 40 X, H & E).

5.3.1.4 - Periodonto dos dentes com ligadura, grupo Controle, aos 18 dias

O tecido epitelial da face vestibular do primeiro molar inferior estava desorganizado, apresentando ulcerações e necrose. O conjuntivo subjacente estava inflamado e, além de neutrófilos, havia grande número de células mononucleares e figuras vasculares. O tecido ósseo estava reabsorvido. O terço cervical da raiz estava exposto e sobre o epitélio, restos celulares e ósseos podiam ser observados. (Figuras 24 e 25)

FIGURA 24- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 18 dias após a colocação de ligadura em animal do grupo controle, mostrando na região vestibular (à esquerda), área de necrose, reabsorção óssea e, infiltrado inflamatório crônico (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 25- Aumento de 20 X da região da Fig.24, mostrando exsudato fibrinoso espesso, ou pseudomembrana, compatível com necrose (H & E).

5.3.1.5 - Periodonto dos dentes com ligadura, grupos Ce1 e Ce2, aos 18 dias

O tecido epitelial da face vestibular do primeiro molar inferior dos grupos Ce1 (Figura 26) e Ce2 (Figuras 27 a 29) apresentaram estruturas epiteliais desorganizadas, semelhante ao grupo controle.

No grupo Ce1 e Ce2, o tecido conjuntivo estava intensamente inflamado, com predomínio de células polimorfonucleares e mononucleares. O tecido ósseo apresentava áreas de reabsorção semelhantes para o grupo Ce1 e Ce2 e, em menores proporções que o controle.

FIGURA 26- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 18 dias após a colocação de ligadura em animal do grupo Ce1, mostrando na região vestibular (à esquerda), estruturas epiteliais desorganizadas, reabsorção óssea e, infiltrado inflamatório intenso (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 27- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 18 dias após a colocação de ligadura em animal tratado com 20mg/kg celecoxib, mostrando na face vestibular (à esquerda) a desorganização do tecido epitelial e conjuntivo, intenso infiltrado inflamatório, reabsorção óssea e, seqüestro ósseo (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 28- Aumento de 10 X da região vestibular da Fig.27, mostrando o infiltrado inflamatório composto, principalmente, por células mononucleares.

FIGURA 29- Seqüestro ósseo da Fig.27 em maiores detalhes. Note o processo de reabsorção óssea tanto por vestibular quanto pelo lado do ligamento periodontal (Aumento de 40 X, H & E).

5.3.1.6 - Periodonto dos dentes com ligadura, grupo Controle, aos 30 dias

Na face vestibular do primeiro molar inferior, o arcabouço do epitélio e conjuntivo estavam desorganizados, e o infiltrado inflamatório era mais pronunciado, quando comparado aos períodos anteriores (Figura 30). O tecido ósseo estava praticamente reabsorvido e, envolto por grande quantidade de osteoclastos (Figura 31). O terço cervical do cimento estava exposto em todos os casos.

FIGURA 30- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 30 dias após a colocação de ligadura em animal do grupo controle, mostrando na região vestibular (à esquerda), desorganização do arcabouço do epitélio e conjuntivo, presença de seqüestro ósseo, reabsorção óssea intensa e, infiltrado inflamatório crônico (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 31- Aumento de 40 X da região apical da face vestibular do dente da Fig.30, mostrando em maiores detalhes a presença de intenso infiltrado inflamatório, composto predominantemente por células mononucleares e, reabsorção óssea (H & E).

5.3.1.6 - Periodonto dos dentes com ligadura, grupos Ce1 e Ce2, aos 30 dias

Todas as estruturas da gengiva e do periodonto do grupo Ce1 (Figura 32) eram semelhantes as do período anterior. O grupo Ce2 (Figura 33) apresentava desorganização do tecido conjuntivo e, intenso infiltrado inflamatório composto por células mononucleares. O tecido ósseo em ambos, Ce1 e Ce2, estava menos reabsorvido que o grupo controle.

FIGURA 32- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 30 dias após a colocação de ligadura em animal do grupo Ce1, mostrando na região vestibular (à esquerda), desorganização do arcabouço do epitélio e conjuntivo, presença de pronunciado infiltrado inflamatório crônico, sequestro ósseo e, reabsorção óssea intensa (Aumento de 4 X, H & E).

FIGURA 33- Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar inferior direito, 30 dias após a colocação de ligadura em animal do grupo Ce2, mostrando na região vestibular (à esquerda), desorganização do arcabouço do epitélio e conjuntivo, presença de pronunciado infiltrado inflamatório crônico e, reabsorção óssea mais pronunciada do lado do ligamento periodontal (Aumento de 4 X, H & E).

5.3.1.1. Análise quantitativa subjetiva das alterações histopatológicas

Para cada grupo experimental (Controle, Ce1 ou Ce2) e, em cada um dos períodos analisados (5, 18 ou 30 dias), foram obtidas as médias dos escores das alterações histopatológicas, encontrados na superfície vestibular de primeiros molares com ligadura. A média e o desvio-padrão de cada grupo experimental, bem como as diferenças estatísticas entre os mesmos, estão apresentados na Tabela 5.

Á análise estatística através do teste não-paramétrico de Kruskal- Wallis, demonstrou-se que, a administração de celecoxib, comparado ao grupo Controle, retardou o início do processo inflamatório agudo aos 5 dias (Ce1: $p= 0.02$ e, Ce2: $p=0.002$). Também foram observados nesse período uma menor intensidade de necrose e, um menor número de vasos sanguíneos nos animais tratados com celecoxib, em relação ao grupo Controle.

Aos 18 dias, o processo inflamatório crônico apresentou-se moderado em todos os espécimes analisados, sem diferença estatística entre os mesmos ($p=0.32$). Nesse mesmo período, a inflamação aguda começou a se tornar mais evidente nos grupos tratados com celecoxib. A necrose e a presença de vasos sanguíneos em praticamente todos os espécimes aos 18 e aos 30 dias, não apresentaram diferença quanto ao grau de acometimento entre os grupos. ($p= 0.367$ e $p= 0.097$)

Mas, aos 30 dias, o tratamento com celecoxib levou a uma menor intensidade do processo inflamatório crônico em relação ao Controle (Ce2:

p=0.01) e, a um aumento do processo inflamatório agudo em relação ao período de 5 dias (p=0.01 e p=0.004, respectivamente Ce1 e Ce2).

O celecoxib também inibiu a reabsorção óssea alveolar e decresceu o número de osteoclastos, em relação ao grupo controle. Aos 5 dias, a reabsorção óssea e o número de osteoclastos eram menores no grupo Ce1, em relação ao grupo controle (p=0.02) e, aos 30 dias, também observou-se que a reabsorção óssea foi menos intensa nos grupos tratados com celecoxib em relação ao grupo controle (Ce1: p=0.03 e, Ce2: p=0.007).

Tabela 5- Escores das alterações histopatológicas encontradas na superfície vestibular de dentes com ligadura de ratos pertencentes aos diferentes grupos experimentais (Controle, Ce1 ou Ce2) em cada um dos períodos analisados (5, 18 ou 30 dias) , com dados expressos em média \pm desvio-padrão

GRUPO		Inflamação aguda	Inflamação crônica	Necrose	Reabsorção óssea	Osteoclastos	Vasos sangüíneos
Controle		2.30 \pm 0.40	2.10 \pm 0.20	1.50 \pm 0.00	1.90 \pm 0.20	1.60 \pm 0.20	3.00 \pm 0.00
5 d	Ce1	1.25 \pm 0.25 ^a	2.42 \pm 0.67 ^a	0.75 \pm 0.63 ^a	1.92 \pm 0.45 ^a	1.83 \pm 0.24 ^a	1.50 \pm 0.00
	Ce2	1.43 \pm 0.49 ^a	3.14 \pm 1.22 ^a	1.07 \pm 0.78 ^a	2.29 \pm 0.36	1.07 \pm 0.49	1.71 \pm 0.25 ^{ab}
Controle		0.90 \pm 0.49 ^c	1.50 \pm 0.00	0.10 \pm 0.20	0.80 \pm 0.40	0.80 \pm 0.40	2.60 \pm 0.80
18 d	Ce1	1.58 \pm 0.19 ^c	2.50 \pm 0.00 ^c	1.17 \pm 0.62 ^c	1.67 \pm 0.24	1.17 \pm 0.62	1.17 \pm 0.62 ^c
	Ce2	1.88 \pm 0.41	2.50 \pm 0.00	0.75 \pm 0.25	1.63 \pm 0.22	0.63 \pm 0.41	1.450 \pm 0.00
Controle		0.20 \pm 0.24 ^c	1.30 \pm 0.24	0.30 \pm 0.60	1.50 \pm 0.32	1.50 \pm 0.32	1.30 \pm 0.40 ^c
30 d	Ce1	1.17 \pm 0.24 ^c	1.83 \pm 0.47 ^c	0.50 \pm 0.71	1.67 \pm 0.24 ^{ac}	1.67 \pm 0.24	0.33 \pm 0.47
	Ce2	1.83 \pm 0.24 ^c	2.00 \pm 0.00 ^{ac}	0.83 \pm 0.24	1.33 \pm 0.24 ^{ac}	1.17 \pm 0.24 ^d	1.67 \pm 0.24 ^d

^a Diferença significativa em relação ao grupo Controle, no mesmo período avaliado, pelo teste de Kruskal-Wallis, p < 0.05.

^b Diferença significativa em relação ao grupo Ce1, no mesmo período avaliado, pelo teste de Kruskal-Wallis, p < 0.05.

^c Diferença significativa em relação ao período de 5 dias, no mesmo grupo experimental avaliado, pelo teste de Kruskal-Wallis, p < 0.05.

^d Diferença significativa em relação ao período de 18 dias, no mesmo grupo experimental avaliado, pelo teste de Kruskal-Wallis, p < 0.05.

6. Discussão

É bem estabelecido na literatura pertinente o protocolo de pesquisa, usado nesse trabalho, para a indução da doença periodontal em ratos.^{5,36,69} A colocação da ligadura ao redor do primeiro molar inferior modificou gradativamente as características macroscópicas da gengiva, traduzindo-se por aumento de volume na face vestibular, claramente observado desde os períodos iniciais (5 dias), até a exposição do terço médio das raízes, com envolvimento de furca, observada nos períodos mais tardios (18 e 30 dias). Com o decorrer dos períodos analisados, observou-se também que houve evolução do processo inflamatório e que, até os 30 dias após a colocação da ligadura, o quadro histológico foi de uma reação intensa, com desorganização e destruição do tecido conjuntivo fibroso e, do tecido ósseo (Tabelas 4 e 5). Estes dados, comprovam a eficácia do modelo experimental escolhido, neste trabalho, para o estabelecimento e progressão da doença periodontal em ratos.

No estágio atual do nosso conhecimento sobre o desenvolvimento da doença periodontal inflamatória, existe um fato repetidamente demonstrado e, sobre o qual, parece não existir qualquer sombra de dúvida: o acúmulo do biofilme bacteriano, nas superfícies dentais próximas à gengiva, é a causa direta da inflamação periodontal.^{68,69} No presente trabalho, não avaliou-se quantitativamente e, nem qualitativamente, o biofilme bacteriano. No entanto, observou-se ausência de alterações microscópicas significativas na face

lingual, o que pode ser explicado pelo menor acúmulo de placa ocorrido nessa região, em virtude, possivelmente, da ação mecânica de limpeza exercida pela língua do animal.

Postula-se que os lipopolissacarídeos e outros produtos bacterianos, resultantes do acúmulo de biofilme bacteriano no dente, podem levar à inflamação periodontal, mediada pela produção e liberação de fatores locais a partir de linfócitos e monócitos. Esses fatores imunoinflamatórios, como é o caso das interleucinas e prostaglandinas, contribuem significativamente à prevenção da difusão bacteriana aos tecidos mais profundos e distantes. No entanto, também correlacionam-se com a própria destruição dos tecidos periodontais.⁹

A presença de elevados níveis de mediadores inflamatórios, principalmente os metabólitos do AA, também estão envolvidos com a destruição tecidual de outras doenças inflamatórias, além da doença periodontal, como a artrite reumatóide, gota e psoríase.⁷⁰ Os metabólitos do AA podem participar de vários eventos associados com o processo inflamatório, tais como, agregação plaquetária, vasodilatação, vasoconstrição, quimiotaxia de neutrófilos, aumento da permeabilidade vascular e, reabsorção óssea. Todos estes eventos estão intimamente relacionados com o desenvolvimento, progressão e manutenção da doença periodontal inflamatória²⁹ e, podem ter sido os responsáveis pela doença periodontal observada neste trabalho.

A partir dessas informações, vários estudos foram realizados com o intuito de elucidar os mecanismos e interações das células do hospedeiro na

síntese e liberação dos metabólitos do ácido araquidônico em tecidos periodontais saudáveis e inflamados.^{12,13,20,28} Sabe-se que o ácido araquidônico (AA) é liberado dos fosfolípidos da membrana celular pela ação da enzima fosfolipase A2. A cascata do AA inicia-se então, com a transformação do AA livre, via cicloxigenase ou lipoxigenase. Quando o AA é enzimaticamente oxidado pela cicloxigenase, forma intermediários cicloendoperoxidase instáveis (PGG₂ e PGH₂) levando à síntese dos prostanóides: prostaglandinas (PG), prostaciclina, e tromboxanas (TXB). Pela ação da lipoxigenase, o AA forma os leucotrienos (LTB) e outros ácidos hidroieicosatetraenoicos (HETE).⁷⁰

Níveis elevados de PGE₂, TXB₂, prostaciclina, 12-HETE ou de 15-HETE, são encontrados em tecidos periodontais inflamados em estudos com animais^{44,58,59,83} e com humanos.^{1,25,35,64} Além disso, os níveis desses mediadores presentes nos tecidos periodontais e, no fluido do sulco gengival podem correlacionar-se com a expressão clínica da doença periodontal. Desta forma, podem ser encontrados níveis mais altos de PGE₂ na presença de eritema gengival e dor a sondagem,⁵⁴ na periodontite agressiva em relação a periodontite crônica,⁵⁵ em sítios periodontais mais profundos em relação aos superficiais,⁸ em sítios com episódios de perda de inserção clínica em comparação aos sítios sem perda de inserção⁵⁶ e, em sítios com maior profundidade de sondagem e escore de sangramento à sondagem.⁵⁰ Com relação a TXB₂, esta também pode ser encontrada em níveis mais elevados na periodontite em relação a gengivite⁶⁶ e, em sítios periodontais mais profundos em relação a sítios superficiais.⁸ Em sítios

periodontais saudáveis, níveis muito baixos ou não detectáveis de PGE₂ e de TXB₂ são encontrados.^{8,54} A presença da prostaciclina, por sua vez, têm sido relatada em tecidos periodontais inflamados ou não inflamados.⁸

Entretanto, são os níveis de um metabólito derivado da via cicloxigenase, a prostaglandina E₂ (PGE₂) presente no fluido do sulco gengival de pacientes com doença periodontal,⁵⁰ que mais têm sido correlacionados com a severidade da doença periodontal,⁵⁶ devido ao importante papel que este metabólito exerce no processo de reabsorção do osso alveolar.⁵³

As drogas antiinflamatórias não-esteróides (AINEs) são inibidoras seletivas da cicloxigenase e, por conseguinte, previnem a síntese de prostaglandinas, tromboxanas e prostaciclina.^{9,70} Essa ação é responsável por suas propriedades terapêuticas: analgésica, antipirética e antiinflamatória.²² Devido à essa última propriedade, os antiinflamatórios não-esteróides têm sido utilizados em estudos clínicos e laboratoriais associados com a doença periodontal, demonstrando forte evidência de que seu uso pode levar à diminuição da progressão da doença periodontal.⁵² Apesar de limitados, os estudos sobre a utilização de antiinflamatórios não-esteróides na terapia periodontal têm nos ajudado a uma melhor compreensão sobre a patogênese da doença periodontal.²²

Os AINEs têm demonstrado potencial para modificar as respostas do hospedeiro frente ao insulto bacteriano.⁶³ O uso tópico ou sistêmico de vários antiinflamatórios não-esteróides, tais como o flurbiprofen^{1,6,23,27,32,33,35,57,58,59,75,80,81,83-85}, a indometacina^{5,42,52,81,83}, o

ibuprofen^{40,59,82}, ácido meclofenâmico⁴⁰, meclofenamato sódico⁶⁵, piroxican³⁰, naproxen^{31,34}, naprosyn³⁷, ácido acetilsalicílico^{16,61}, ketoprofen^{44,62}, ketorolac^{35,64} e o meloxicam⁵, tem sido avaliado por diversos estudos "in vivo".

A eficácia desses AINEs no tratamento da doença periodontal em humanos e em animais, tem sido avaliada por meio de diversos parâmetros clínicos ou radiográficos como, presença de edema, eritema gengival, exsudato do fluido do sulco gengival, presença de PGE₂ e TXB₂ no fluido do sulco gengival, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, altura do osso alveolar, taxa de perda ou ganho ósseo e, metabolismo ósseo (incorporação de marcadores radioativos). E, são essas diferenças metodológicas quanto ao modelo experimental, variáveis avaliadas e critérios de avaliação, ou mesmo, diferenças quanto ao tipo de AINE empregada, que dificultam as possíveis comparações entre os diversos estudos presentes na literatura.

Contudo, inúmeros estudos demonstraram que a utilização de AINEs pode resultar em diminuição dos escores de edema e eritema gengival^{16,23,25,27,30,37,57,62,75,78}, menor quantidade de exsudato do fluido do sulco gengival²⁴, menor concentração de PGE₂^{1,25,35,59} e TXB₂^{1,25,58,59} no fluido do sulco gengival, diminuição da profundidade de sondagem^{16,75,78} e nível de inserção clínico⁷⁸, diminuição da taxa de perda óssea^{5,15,25,31-35,40,42,44,52,57,59,62,65,80-85} e diminuição da perda de dentes.⁸⁴

No entanto, a ausência de resultados duradouros após a terapia sistêmica com AINEs, também tem sido relatada.^{1,58,75,85} Isso pode sugerir uma

necessidade de regimes terapêuticos em longo prazo, para prevenir a reabsorção óssea por um período de tempo.

Além disso, o tratamento sistêmico com antiinflamatórios não esteróides está frequentemente associado com efeitos colaterais tais como, irritação gastrointestinal e formação de úlceras gastrointestinais, o que limita a aplicação crônica dessa classe de drogas.² A aplicação tópica de AINEs poderia constituir-se em uma solução para esse problema, uma vez que, parece ser tão efetiva quanto a sistêmica na redução da inflamação e da perda óssea alveolar.⁵⁹ Os resultados da utilização de AINEs em diversas formulações para bochecho, géis, dispositivos de liberação lenta e cremes dentais têm levado a resultados promissores e, algumas vezes, superiores às formulações sistêmicas,^{35,62} o que pode ser explicado pela alta concentração tecidual atingida pelas formulações tópicas.⁶³ No entanto, demonstrou-se que a terapia tópica com AINEs também pode levar a efeitos colaterais, tais como eritema, dor de cabeça, parestesia, náusea, diarreia e angioedema.¹⁰

Estudos de enzimas recombinantes "*in vitro*" e em células têm demonstrado que os AINEs inibem a atividade de ambas COX-1 e COX-2, isoformas distintas de COX.¹⁹ Foi comprovado que a inibição da COX-1 é a responsável pelos danos gastro-intestinais e das plaquetas⁴⁵ e a inibição da COX-2 é a responsável pelos benefícios terapêuticos.^{3,47,71} Recentemente, demonstrou-se imunohistoquimicamente que amostras gengivais com elevados níveis de infiltrado inflamatório continham uma alta expressão da COX-2.⁴⁸ Além disso, os

efeitos de AINEs que inibem, preferencialmente ou seletivamente, a produção ou função da COX-2, foram estudados por Morton & Dongari-Bagtzoglou⁴⁸ e, por Bezerra et al.⁵ Morton & Dongari-Bagtzoglou⁴⁸ observaram que um inibidor seletivo da COX-2, NS-398, resultou em bloqueio da síntese *in vitro* de PGE₂ por fibroblastos humanos, estimulados por citocinas e por constituintes bacterianos. Já, Bezerra et al.,⁵ demonstraram uma prevenção da perda óssea alveolar em doença periodontal induzida em ratos, com a utilização de um inibidor preferencial da COX-2, o meloxicam.

A partir desses conhecimentos, optou-se, no presente trabalho, por utilizar um novo antiinflamatório não-esteróide, inibidor seletivo da COX-2 (celecoxib), que ainda não foi avaliado em doença periodontal inflamatória. Desta forma, os efeitos da administração de celecoxib, em duas concentrações (10mg e 20 mg/kg de peso corporal), foram avaliados sobre o desenvolvimento de doença periodontal, induzida por ligadura em ratos. As doses de 10 e 20 mg/kg de peso corporal/ dia, utilizadas no presente estudo, foram baseadas em estudos anteriores, os quais demonstraram que as concentrações séricas de celecoxib resultantes da administração oral dessas dosagens, mostraram-se bem toleradas e, farmacologicamente efetivas na supressão de inflamação em ratos.^{74, 79}

Os resultados do presente trabalho demonstraram que, radiograficamente, a administração de celecoxib (10 ou 20mg/kg de peso corporal) levou, apenas aos 5 dias, a uma menor perda ossea em dentes com ligadura quando comparado ao grupo controle (p=0.005, para ambos). No entanto,

histologicamente, uma reabsorção óssea menos intensa pôde ser observada nos grupos tratados com celecoxib, também aos 30 dias (Ce1: $p=0.03$ e Ce2: $p=0.007$). Desta forma, a ausência de diferenças estatísticas quanto à altura óssea encontrada nos grupos tratados com celecoxib em relação ao controle, talvez reflita o padrão de reabsorção óssea que, possivelmente, inicia-se com a redução da massa óssea em sentido horizontal, sem que necessariamente, ocorra qualquer efeito imediato sobre a altura óssea.

O tratamento com celecoxib diminuiu a intensidade da reabsorção óssea e do processo inflamatório crônico, aos 30 dias de experimento. Ainda, nos animais do grupo controle, a dinâmica do processo inflamatório deu-se de maneira normal, isto é, no período inicial observou-se predominantemente, infiltrado inflamatório agudo e, nos períodos mais tardios (18 e 30 dias), infiltrado inflamatório crônico. Já, nos animais tratados com celecoxib (10 e 20 mg/ kg de peso corporal), houve abreviação da dinâmica inflamatória aguda no período inicial, e uma exacerbação do mesmo nos períodos mais tardios. Os resultados do presente estudo concordam com os achados de Nyman et al.,⁵² 1979, e, Bezerra et al.,⁵ 2000, que demonstraram que a administração de AINEs, indometacina e meloxicam, respectivamente, levou a supressão da reação inflamatória aguda logo nos primeiros dias após a colocação de ligadura em molares de cães.

Um fato que poderia explicar a ausência de eficácia do celecoxib em combater a inflamação aguda nos períodos mais tardios, é o maior acúmulo de biofilme bacteriano e, conseqüentemente, um aumento de estímulos

imunoinflamatórios, que pode ter ocorrido. Dessa forma, a ativação de outros mediadores inflamatórios, além daqueles oriundos da COX-2, poderia explicar a ausência de inibição total da reabsorção óssea encontrada nos grupos tratados com celecoxib, em qualquer um dos períodos avaliados.

Alguns estudos demonstraram que os metabólitos da via lipoxigenase também podem constituir-se em importantes mediadores da inflamação tecidual e, reabsorção óssea de pacientes com doença periodontal severa.^{13,17,46} Além disso, de acordo com Kornman et al.,⁴⁰ o bloqueio da via COX com o uso de AINEs pode resultar em um acúmulo de AA o qual, pode ser então, enzimaticamente catalizado, pela via alternativa da lipoxigenase.

Dessa forma, entende-se o importante papel do sistema imune, cujos mecanismos, muito provavelmente, contribuem para a prevenção da difusão microbiana aos tecidos mais profundos e distantes do periodonto.⁹ No entanto, a eliminação do antígeno, que é o objetivo principal do sistema imune, não pode ser alcançada enquanto o biofilme bacteriano persistir. Esta imunidade frustrada pode ser resolvida ou, auxiliada, pela perda do dente ou, pela remoção e controle químico do biofilme bacteriano.²⁹

O presente estudo representa, dentro de nossos conhecimentos, a primeira tentativa de avaliar o papel do celecoxib, no desenvolvimento de inflamação periodontal experimental. Outros estudos experimentais são necessários para se determinar o efeito dessa droga na terapia de uma periodontite já estabelecida e, também, se seus efeitos terapêuticos podem ser mantidos em

longo prazo. Além disso, seria muito interessante avaliar com o auxílio de técnicas moleculares, quais os metabólitos do AA mais prevalentes no tecido periodontal inflamado de ratos submetidos ao tratamento com celecoxib. Desta forma, apesar da ausência de efeitos colaterais gastrointestinais que acompanham o seu uso,^{18,41} e, dos resultados promissores apresentados neste trabalho experimental em ratos, ainda não há conhecimento o suficiente para se recomendar o uso do celecoxib como forma de prevenir a perda óssea periodontal em humanos.

7. Conclusão

Com base nos resultados deste trabalho, conclui-se que:

1) A administração oral diária de celecoxib 10 mg/kg de peso corporal ou 20 mg/kg de peso corporal, interferiu com a resposta inflamatória do periodonto frente a presença da ligadura em ratos. O celecoxib: (i) atrasou o início do processo inflamatório agudo e diminuiu sua magnitude; e (ii) diminuiu o grau de reabsorção óssea alveolar.

2) Não houve diferenças quanto à dosagem de celecoxib (10 mg/kg ou 20 mg/kg de peso corporal) utilizada, com relação a dinâmica do processo inflamatório e, reabsorção óssea alveolar.

8. Referências bibliográficas*

1. ABRAMSON, M. M. et al. Flurbiprofem effect on gingival crevicular fluid prostaglandins and thromboxane levels in humans. *J. Periodontal Res.*, v. 27, p. 539-43, 1992.
2. ALLISON, M. C. et al. Gastrointestinal damage associated with the use of non-steroidal antiinflammatory drugs. *N. Engl. J. Med.*, v. 327, p. 749-54, 1992.
3. ANDERSON, G. D. et al. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J. Clin. Invest.*, v. 97, p. 2672-9, 1996.
4. BENSEN, W. G. Antiinflammatory and analgesic efficacy of COX-2 specific inhibition: from investigational trials to clinical experience. *J. Rheumatol.*, v. 27, p. 17-24, 2000.
5. BEZERRA, M. M. et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J. Periodontol.*, v. 71, p. 1009-14, 2000.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP. *Normas para publicações da UNESP*. São Paulo: Editora UNESP, 1994. 4v., V.2. Referências bibliográficas.

6. BRÄGGER, U. et al. Effect of the NSAID flurbiprofem on remodelling after periodontal surgery. *J. Periodontal Res.*, v. 32, p. 575-82, 1997.

7. DAVIES, N. M. et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of celecoxib. A selective Cyclo-oxygenase-2 inhibitor. *Clin. Pharmacokinet.*, v. 38, p. 225-42, 2000.
8. DEWHIRST, F. E. et al. Levels of prostaglandin E2, thromboxane and prostacyclin in periodontal tissues. *J. Periodontal Res.*, v. 18, p. 156, 1983.
9. DRISKO, A. Review: Non-surgical pocket therapy: Pharmacotherapeutics. *Ann. Periodontol.*, v. 1, p. 507-17, 1996.
10. DROMGOORE, S. H. Topical non steroidal anti-inflammatory drugs in skin diseases and musculoskeletal disorders. In: Lewis, A. J., Furst, D. E. *Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs. Mechanisms and clinical uses*. 2th. ed. New York: Marcel Dekker, 1994, p. 71-95.
11. ELATTAR, T.M.A. et al. The effect of non-steroidal antiinflammatory drugs on the metabolism of ¹⁴C-arachidonic acid by human gingival tissue *in vitro*. *J. Dent. Res.*, v. 62, p. 975-9, 1983.
12. ELATTAR, T.M.A. et al. Arachidonic acid metabolism in inflamed gingiva and its inhibition by anti-inflammatory drugs. *J. Periodontol.*, v. 55, p. 536-9, 1984.
13. ELATTAR, T.M.A. et al. Hydroxy fatty acids and prostaglandin formation in diseased human periodontal pocket tissue. *J. Periodontal Res.*, v. 21, p. 169-76, 1986.

14. EMERY, P. et al. Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatic arthritis: randomised double-blind comparison. *Lancet*, v. 354, p. 2106-11, 1999.
15. FELDMAN, R. S. et al. Non-steroid anti-inflammatory drugs in the reduction of human alveolar bone loss. *J. Clin. Periodontol.*, v. 10, p. 131-6, 1983.
16. FLEMMIG, T. F. et al. Adjunctive supragingival irrigation with acetylsalicylic acid in periodontal supportive therapy. *J. Clin. Periodontol.*, v. 22, p. 427-33, 1995.
17. GALLWITZ, W. E. et al. 5-lipoxygenase metabolites of arachidonic acid stimulate isolated osteoclasts to resorb calcified matrices. *J. Biol. Chem.*, v. 268, p. 10087-94, 1993.
18. GEIS, G. S. et al. Endoscopic and tolerability results from a study of celecoxib, a specific COX-2 inhibitor, in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Eur.*, v. 27, suppl. 1, p. 118, 1998.
19. GIERSE, J.K. et al. Expression and selective inhibition of the constitutive and inducible forms of human cyclooxygenase. *Biochem. J.*, v. 305, p. 479-84, 1995.
20. GOMES, B. C. et al. Prostaglandins: Bone resorption stimulating factors released from monkey gingiva. *Calcif. Tissue Res.*, v. 18, p. 285-93, 1976.
21. HAWKEY, C. J. COX-2 inhibitors. *Lancet*, v. 353, p. 307-14, 1999.
22. HEASMAN, P. A. The role of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the management of periodontal disease. *J. Dent.*, v. 16, p. 247-57, 1988.

23. HEASMAN, P. A.; SEYMOUR, R. A. The effect of systemically - administered non-steroidal anti-inflammatory drug (Flurbiprofen) on experimental gingivitis in humans. *J. Clin. Periodontol.*, v. 16, p. 551-6, 1989.
24. HEASMAN, P. A., SEYMOUR, R. A. An association between long-term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy and the severity of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, v. 17, p. 654-8, 1990.
25. HEASMAN, P. A. et al. Flurbiprofen in the prevention and treatment of experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 20, p. 732-8, 1993.
26. HEASMAN, P. A et al. The use of topical flurbiprofen as an adjunct to non-surgical management of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, v. 20, p. 457-64, 1993.
27. HEASMAN, P. A. et al. The effect of systemically-administered flurbiprofen as an adjunct to toothbrushing on the resolution of experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 21, p. 166-70, 1994.
28. HIGGS, G. A. et al. Arachidonic metabolism as a source of inflammatory mediators and its inhibition as a mechanism of action for anti-inflammatory drugs. *Mol. Aspects Med.*, v. 4, p. 275-301, 1981.
29. HOWELL, T.H. Blocking periodontal disease progression with anti-inflammatory agents. *J. Periodontol.*, v. 64, p. 828-33, 1993.

30. HOWELL, T.H. et al. Effect of the NSAID piroxicam, topically administered, on the development of gingivitis in beagles dogs. *J. Periodontal Res.*, v. 26, p. 180-3, 1991.
31. HOWELL, T.H. et al. Inhibition of alveolar bone loss in beagles with the NSAID naproxen. *J. Periodontal Res.*, v. 26, p. 498-501, 1991
32. JEFFCOAT, M. K. et al. Nuclear medicine. An indicator of “active” alveolar bone loss in beagles dogs treated with a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *J. Periodontol.*, v. 56, p. 8-12, 1985.
33. JEFFCOAT, M. K. et al. Flurbiprofem treatment of human periodontitis: effect on alveolar bone height and metabolism. *J. Periodontal Res.*, v. 23, p. 381-5, 1988.
34. JEFFCOAT, M. K. et al. Use of digital radiography to demonstrate the potential of naproxen as an adjunct in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J. Periodontal Res.*, v. 26, p. 415-21, 1991.
35. JEFFCOAT, M.K. et al. A comparison of topical Ketorolac, systemic Flurbiprofem, and Placebo for the inhibition of bone loss in adult periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 66, p. 329-38, 1995.
36. JOHNSON, I. H. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J. Periodontal Res.*, v. 10, p. 332-45, 1975.
37. JOHNSON, R. H. et al. Assessment of the efficacy of a nonsteroidal anti-inflammatory drug, Naprosyn®, in the treatment of gingivitis. *J. Periodontal Res.*, v. 25, p. 230-5, 1990.

38. JOUZEAU, J. Y. et al. Cyclo-oxygenase isoenzymes. How recent findings affect thinking about nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs*, v. 53, p. 563-82, 1997.
39. KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J. Periodontol.*, v. 62, p. 59-73, 1991.
40. KORNMANN, K. S. et al. Effects of topical applications of meclofenamic acid and ibuprofen on bone loss, subgingival microbiota and gingival PMN response in the primate *Macaca fascicularis*. *J. Periodontal Res.*, v. 25, p. 300-7, 1990.
41. LANZA, F. L. et al. A pilot endoscopic study of the gastroduodenal effects of SC-58635, a novel COX-2 selective inhibitor. *Gastroenterol.*, v. 112, suppl. 4, p. 194, 1993.
42. LASFARGUES, J. J., SAFFAR, J. L. Effect of indomethacin on bone destruction during experimental periodontal disease in the hamster. *J. Periodontal Res*, v. 18, p. 110-7, 1983.
43. LEIBUR, E. et al. Prostaglandin E levels in blood plasma and in crevicular fluid of advanced periodontitis patients before and after surgical therapy. *Oral Dis.*, v. 5, p. 223-8, 1999.
44. LI, K. L. et al. The effect of ketoprofen creams on periodontal disease in rhesus monkeys. *J. Periodontal Res.*, v. 31, p. 525-31, 1996.

45. MASFERRER, J. L. et al. Selective regulation of cellular cyclooxygenase by dexamethasone and endotoxin in mice. *J. Clin. Invest.*, v. 86, p. 1375-9, 1990.
46. MEGHJI, S. et al. Stimulation of bone resorption by lipoxygenase metabolites of arachidonic acid. *Prostaglandins*, v. 36, p. 139-49, 1988.
47. MIZUNO, H. et al. Induction of cyclooxygenase 2 in gastric mucosal lesions and its inhibition by the specific antagonist delays healing in mice. *Gastroenterol.*, v. 112, p. 387-97, 1997.
48. MORTON, R. S., DONGARI-BAGTZOGLOU, A. I. Cyclooxygenase-2 is upregulated in inflamed gingival tissues. *J. Periodontol.*, v. 72, p. 461-9, 2001.
49. MUSCARÁ, M. N. et al. Wound collagen deposition in rats: effects of an NO- NSAID and a selective COX-2 inhibitor. *Br. J. Pharmacol.*, v. 129, p. 681-6, 2000.
50. NELSON, S. L. et al. Automated enzyme immunoassay to measure prostaglandin E2 in gingival crevicular fluid. *J. Periodontal Res.*, v. 27, p. 143-8, 1992.
51. NOCITI JR., F. H. et al. The influence of nicotine on the bone loss rate in ligature-induced periodontitis. A histometric study in rats. *J Periodontol*, v. 71, p. 1460-4, 2000.

52. NYMAN, S. et al. Suppression of inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs. *J. Periodontol.*, v. 50, p. 450-61, 1979.
53. OFFENBACHER, S., HEASMAN, P.A., COLLINS, J.G. Modulation of host PGE₂ secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J. Periodontol.*, v. 64, p. 432-44, 1993.
54. OFFENBACHER, S. et al. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J. Clin. Periodontol.*, v. 8, p. 359-67, 1981.
55. OFFENBACHER, S. et al. Crevicular fluid prostaglandin E levels as measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. *J. Periodontal Res.*, v. 19, p. 1-13, 1984.
56. OFFENBACHER, S. et al. The use of crevicular fluid prostaglandin E levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J. Periodontal Res.*, v. 21, p. 101-12, 1986.
57. OFFENBACHER, S. et al. Effects of flurbiprofen on the progression of periodontitis in *Macaca mulatta*. *J. Periodontal Res.*, v. 22, p. 473-81, 1987.
58. OFFENBACHER, S. et al. Changes in cyclooxygenase metabolites in experimental periodontitis in *Macaca mulatta*. *J. Periodontal Res.*, v. 24, p. 63-74, 1989.

59. OFFENBACHER, S. et al. Effects of NSAIDs on beagles crevicular cyclooxygenase metabolites and periodontal bone loss. *J. Periodontal Res.*, v. 27, p. 207-13, 1992.
60. PAGE, R. C., SCHROEDER, H. E. *Periodontitis in man and other animals*. Basel: Karger, 1982, p.71-106.
61. PAOLANTONIO, M. et al. Effetto di irrigzioni subgengivali con acetilsalicilato sul numero di leucociti polimorfonucleati in tasche parodontali di media profondità. *Minerva Stomatol.*, v. 44, p. 265-71, 1995.
62. PAQUETTE, D. W. et al. Enantiospecific inhibition of ligature-induced periodontitis in beagles with topical (S)-ketoprofen. *J. Clin. Periodontol.*, v. 24, p. 521-8, 1997.
63. PAULETTO, N. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory agents: potencial modifiers of periodontal disease progression. *J. Can. Dent. Assoc.*, v. 63, p. 824-32, 1997.
64. PRESHAW, P. M. et al. Effects of ketorolac tromethamine mouthrinse (0.1% on crevicular fluid prostaglandin E2 concentrations in untreated chronic periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 69, p. 777-83, 1998.
65. REDDY, M. S. et al. Efficacy of meclofenamate sodium (Meclomen®) in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v.20, p. 635-40, 1993.

66. RIFKIN, B. R., TAI, H. H. Elevated thromboxane B2 levels in periodontal disease. *J. Periodontal Res.*, v. 16, p. 194-8, 1981.
67. ROMANOWSKI, A. W., SQUIER, C. A., LESCH, C. A. Permeability of rodent junctional epithelium to exogenous protein. *J. Periodontal Res.*, v. 23, p. 81-6, 1988.
68. ROVIN, S., COSTICH, E. R., GORDON, A. H. The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germ-free and conventional rats. *J. Periodontal Res.*, v. 1, p. 193-203, 1966.
69. SALLAY, K. et al. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *J. Periodontal Res.*, v. 17, p. 263-74, 1982.
70. SALVI, G. E. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as an adjunct in the management of periodontal diseases and peri-implantitis. *Curr. Opin. Periodontol.*, v. 4, p. 51-8, 1997.
71. SEIBERT, K. et al. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase (COX)-2 in inflammation and pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 91, p. 12013-7, 1994.
72. SIMON, L. S. et al. Preliminary study of the safety and efficacy of SC-58635, a novel cyclooxygenase 2 inhibitor. *Arthritis Rheumatism*, v. 41, p. 1591-601, 1998.
73. SIMON, L. S. et al. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 289, p. 1921-8, 1999.

74. SMITH, C. J. et al. Pharmacological analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. *Pharmacol.*, v. 95, p. 13313-8, 1998.
75. TAIYEB ALI, T. B., WAITE, I. M. The effect of systemic ibuprofen on gingival inflammation in humans. *J. Clin. Periodontol.*, v. 20, p. 723-8, 1993.
76. TAKATA, T. et al. Penetration and uptake of colloidal gold-labeled Concanavalin A in the junctional epithelium of the rat. *J. Periodontol.*, v. 59, p. 823-982, 1988.
77. TIBBLE, J. A. et al. Comparison of the intestinal toxicity of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, and indomethacin in the experimental rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 8, p. 802-7, 2000.
78. WAITE, I. M et al. The periodontal status of subjects receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J. Periodontal Res.*, v. 16, p. 100-8, 1981.
79. WALLACE, J. L., CHAPMAN, K., MCKNIGHT, W. Limited anti-inflammatory efficacy of cyclooxygenase-2 inhibition in carrageenan-airpouch inflammation. *Br. J. Pharmacol.*, v. 126, p. 1200-4, 1999.
80. WILLIAMS, R. et al. Non-steroidal antiinflammatory drug treatment of periodontitis in beagles. *J. Periodont. Res.*, v.19, p. 633-7, 1984.
81. WILLIAMS, R. et al. Indomethacin or flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles: comparison of effect on bone loss. *J. Periodontal Res.*, v. 22, p. 403-7, 1987.

82. WILLIAMS, R. et al. Ibuprofen: an inhibitor of treatment of alveolar bone resorption in beagles. *J. Periodontal Res.*, v. 23, p. 225-9, 1988.
83. WILLIAMS, R. et al. Indomethacin or flurbiprofem treatment of periodontitis in beagles: effect on crevicular fluid arachidonic acid metabolites compared with effect on alveolar bone loss. *J. Periodontal Res.*, v. 23, p. 134-8, 1988.
84. WILLIAMS, R. et al. Topical flurbiprofem treatment of periodontitis in beagles. *J. Periodont. Res.*; v. 23, p. 166-169, 1988.
85. WILLIAMS, R. et al. Altering the progression of human alveolar bone loss with the nonsteroidal anti-inflammatory drug flurbiprofem. *J. Periodontol.*, v. 60, p. 485-90, 1989.
86. ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, N.J., EUA, 4^a ed., 1999, p.850.

HOLZHAUSEN, M. *Efeito do celecoxib sobre o desenvolvimento de doença periodontal induzida em ratos*. Araraquara, 2001. 123p. Dissertação (Mestrado em Periodontia)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Os metabólitos do AA exercem um reconhecido papel na patogênese da doença periodontal. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do celecoxib, um inibidor seletivo da enzima cicloxigenase-2 (COX-2), sobre o desenvolvimento de doença periodontal induzida por ligadura em ratos. Após a colocação de ligadura de algodão ao redor dos primeiros molares inferiores direitos, 180 ratos Holtzman foram aleatoriamente subdivididos em 3 grupos experimentais com 60 animais cada, os quais receberam diariamente dose oral de celecoxib 10 mg ou 20 mg/ kg de peso corporal (grupos Ce1 e Ce2, respectivamente) ou, dose oral de 10ml/kg de NaCl a 0,9% (grupo Controle). Aos 3, 5, 10, 18 e 30 dias após o início do experimento, 12 animais de cada grupo experimental foram sacrificados. O tratamento com celecoxib, em ambas as concentrações, reduziu significativamente ($p < 0.05$) a perda óssea alveolar radiográfica aos 5 dias e, diminuiu a intensidade da reabsorção óssea, observada histologicamente, aos 30 dias. Ainda, o celecoxib atrasou o início e, diminuiu a magnitude, do processo inflamatório agudo. Estes resultados demonstram que a inibição seletiva da COX-2 com o celecoxib, pode

interferir com a resposta do tecido periodontal frente à presença de ligadura em ratos.

Palavras-chave: Perda óssea alveolar; doenças periodontais; anti-inflamatórios não-esteróides.

HOLZHAUSEN, M. *Effect of celecoxib on the development of experimental periodontal disease in rats*. Araraquara, 2001. 123p. Dissertação (Mestrado em Periodontia)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Arachidonic acid metabolites have a recognized role in the pathogenesis of periodontal disease. The purpose of this study was to evaluate the effect of a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor, celecoxib, on the progression of periodontal disease in a ligature-induced periodontitis model in rats. After ligature placement in the mandibular right first molars, 180, 6-week-old Holtzman rats were randomly assigned to one of the following groups of treatment that consisted in a daily oral dose of 10mg/kg body weight of celecoxib (Ce1), 20mg/kg body weight of celecoxib (Ce2) or 10ml/kg of 0,9%NaCl (Control). At 3, 5, 10, 18 and 30 days later, 12 animals of each group were sacrificed. Treatment with celecoxib significantly ($p < 0.05$) decreased the radiographic bone loss at 5 days of experiment and, decreased the bone loss activity, histologically observed at 30 days. In addition, celecoxib was shown to delay the onset and to suppress the magnitude of the acute inflammatory process. These results show that selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibition with celecoxib, can interfere with the periodontal tissue response to ligature placement in rats.

Keywords: Alveolar bone loss; periodontal diseases; anti-inflammatory agents, non-steroidal.