

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

CINTIA DA GRAÇA GOMES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INDOMETACINA NO
BIOFILME BACTERIANO RETIDO EM LIGADURAS
DE RATOS**

BAURU
2015

CINTIA DA GRAÇA GOMES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INDOMETACINA NO
BIOFILME BACTERIANO RETIDO EM LIGADURAS
DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências da
Saúde da Universidade do Sagrado
Coração, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Bacharel em
Odontologia, sob orientação da Profa.
Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos.

BAURU
2015


F3631a	<p data-bbox="548 1383 987 1415">Fernandes, Cintia da Graça Gomes</p> <p data-bbox="548 1446 1284 1570">Avaliação do efeito da indometacina no biofilme bacteriano retido em ligaduras de ratos / Cintia da Graça Gomes Fernandes. -- 2015. 24f. : il.</p> <p data-bbox="594 1604 1235 1635">Orientadora: Profa. Dra. Mirella Lindoso G. Campos.</p> <p data-bbox="548 1667 1284 1759">Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.</p> <p data-bbox="548 1793 1284 1885">1. Periodontite. 2. Ratos. 3. Inibidores de ciclo-oxigenase. 4. Infecções bacterianas. I. Campos, Mirella Lindoso Gomes. II. Título.</p>
--------	---



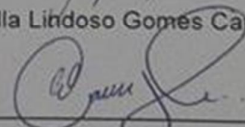
ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Cíntia da Graça Gomes Fernandes.


Ao dia dez de novembro de dois mil e quinze, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de CÍNTIA DA GRAÇA GOMES FERNANDES intitulado: "**Avaliação do efeito da indometacina no biofilme bacteriano retido em ligaduras de ratos.**" Compuseram a banca examinadora os professores Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos (orientadora), Dra. Élcia Maria Varize Silveira e Dra. Pâmela Leticia dos Santos. Após a exposição oral, a candidata foi arguida pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, APROVADA, com a nota 10,0 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pela Orientadora e pelos demais membros da banca.



Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos (Orientadora)



Dra. Élcia Maria Varize Silveira (Avaliador 1)



Dra. Pâmela Leticia dos Santos (Avaliador 2)

Dedico este trabalho aos meus pais
que empenharam muito esforço para
minha formação

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de fazer esse curso, e me dar toda a força necessária para leva-lo até o fim.

Agradeço à Universidade do Sagrado Coração pela excelência do ensino e dos professores, obrigado pela infraestrutura de alta qualidade que me proporcionaram um aprendizado sério e de alta qualidade;

Agradeço à Dra.Claúdia Piccino Sgaviola ex-coordenadora do curso de odontologia, por todo apoio psicológico e moral que me deu durante o tempo em que foi coordenadora,sempre atenta aos problemas dos alunos, obrigada;

Agradeço ao Prof. Dr. Fernando Accorsi Orosco,atual coordenador do curso de odontologia,pelo companheirismo,e por um ser mais que um orientador, um amigo, pra todas as horas um coordenador que se preocupa com cada um dos alunos,obrigado por nos ensinar a diferença entre ensinar e educar;

À minha família, e de forma especial a minha mãe Maria Luisa Gomes da Silva por todo apoio financeiro e emocional,por me ajudar a sempre enxergar o lado bom das dificuldades,e que depois da tempestade vem a bonança, depois da noite vem o dia,e depois do sacrifício vem a vitória,obrigada por me ajudar a realizar este sonho ;

À minha orientadora Mirella Lindoso Gomes Campos, pela orientação,todo cuidado e paciência que dispensou comigo durante realização desse trabalho;

Aos meus professores da banca (Dra.Elcia Maria Varize Silveira, Dra. Pâmela dos Santos) por serem professoras sempre dedicadas aos alunos,e por me deixarem absorver um pouco do vosso conhecimento;

Aos funcionários das clínicas de odontologia (Josiane, Jéssica, Celinha,Vanilza) por sempre prontas a ajudarem nas clínicas,e laboratórios e por todos os momentos de diversão,e alegria que me proporcionaram nas clínicas;

Ào Mur (Ministério Universidades Renovadas)que foi a minha família aqui no Brasil, me apoiando nos momentos de tristeza ,e me dando força pra realizar todos os sonhos que Deus sonhou pra mim ;

Aos meus amigos africanos aqui no Brasil, por toda amizade companheirismo, por toda a força nos momentos mais difíceis, e por fazerem com que essa etapa da minha vida tenha também além de sacrifícios,e muito estudo, muitas coisas belas pra explorar;

Ao meu namorado Jailson Mascarenhas, por ter me ajudado na formatação deste trabalho e por todo o apoio moral e psicológico, todo o carinho e companheirismo e por não me deixar desistir nos momentos de dificuldade ;

À minha amiga, irmã e companheira de quarto, Patrícia Tomazi por toda amizade e companheirismo, durante todos esses anos na faculdade e toda ajuda para realização deste trabalho

Às minhas amigas irmãs, e colegas de classe Raquel Silva e Fernanda Rayssa por todo companheirismo, amizade , todas as alegrias e dificuldades que passamos juntas.

“A mente que se abre a uma nova ideia
j  mais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação do anti-inflamatório não esteroide Indometacina sobre o biofilme retido em ligaduras para indução de periodontite experimental em ratos. Assim, 20 animais foram divididos aleatoriamente: grupo Indometacina (N=10), grupo água destilada (N=10). Os animais receberam gavagem diária da medicação (5mg/kg Indometacina) ou de água destilada (2ml), durante 7 dias. As ligaduras ao redor dos dentes foram coletadas e o biofilme foi dispersado, diluído a 10^{-6} , semeado e as placas foram cultivadas em anaerobiose durante 4 dias. As quantificações foram realizadas a partir da contagem manual de unidades formadoras de colônia (UFC) e avaliaram-se o número de UFC grandes, que caracteriza melhor espécies anaeróbias estritas, e o número total de UFC de cada grupo. Observou-se que o número de UFC grandes no grupo Indometacina significativamente maior quando comparado ao grupo água ($p=0,028$). O número total de UFC foi significativamente menor no grupo Indometacina quando comparado ao grupo ao grupo água ($p=0,0008$). Dentro dos limites do presente estudo pôde-se concluir que a Indometacina aumenta o crescimento de UFC anaeróbias do biofilme periodontal, mas por outro lado, a Indometacina mostrou-se eficaz na redução do número de UFC totais. Mais estudos deverão ser conduzidos para que melhor se elucide as espécies bacterianas sensíveis à indometacina e qual seria o melhor emprego dessa droga, pensando-se no tipo de doença periodontal e no período mais adequado para sua utilização.

Palavras-chave: Periodontite. Ratos. Inibidores de Ciclo-oxigenase. Infecções bacterianas.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the action of non-steroidal anti-inflammatory indomethacin on the biofilm held in bandages for induction of experimental periodontitis in rats. Thus, 20 animals were randomly assigned: Indomethacin group (N = 10), distilled water group (N = 10). The animals received daily gavage of the drug (5 mg / kg indomethacin) or distilled water (2ml) for 7 days. The ligatures around the teeth were collected and the biofilm was dispersed and diluted 10⁻⁶, were sown and the plates anaerobically cultivated for 4 days. The measurements were carried out from the manual counting colony forming units (CFU) were evaluated and the number of CFU large, featuring better strict anaerobic species and the total CFU for each group. It was observed that the number of CFU large Indomethacin significantly higher in group compared to the water group (p = 0.028). The total number of CFU was significantly lower in the indomethacin group compared to the water group (p = 0.0008). Within the limits of this study it could be concluded that the Indometaciana enhances the growth of CFU anaerobic periodontal biofilm, but on the other hand, Indomethacin proved effective in reducing the number of total CFU. More studies should be conducted to better elucidate the bacterial species susceptible to indomethacin and what would be the best use of this drug, thinking on the type of periodontal disease and the most appropriate period for their use.

Keywords: Periodontitis. Rats. Cyclooxygenase inhibitors. Bacterial infections.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1	INDUÇÃO DA PERIODONTITE EXPERIMENTAL	15
2.2	CULTURA MICROBIANA E CONTAGEM DE COLÔNIAS.....	16
2.3	EUTANÁSIA DOS ANIMAIS E COLETA DAS LIGADURAS.....	16
3	RESULTADOS	17
3.1	PARA COLÔNIAS GRANDES	17
3.2	PARA COLÔNIAS TOTAIS	18
4	DISCUSSÃO	19
5	CONCLUSÃO	21
	REFERÊNCIAS	22
	Anexo	24

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença de caráter multifatorial que se desenvolve em decorrência da interação do biofilme bacteriano com a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro que pode ser modulada por fatores sistêmicos e ambientais. (SHLOSSMAN et al., 1990; PAGE; KORNMAN, 1997; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2001). Os primeiros sinais clínicos são percebidos devido a alterações de volume, cor, forma e presença de sangramento gengival marginal no periodonto de proteção, constatando-se inflamação gengival denominada de gengivite.

A Academia Americana de Periodontia define as doenças gengivais induzidas por placa e não induzidas por placa e as periodontites, doenças que comprometem as estruturas de sustentação do periodonto, em vários grupos a depender das características individuais do biofilme, de sua localização, de fatores ambientais e da resposta imune do hospedeiro. (ARMITAGE, 1999). As doenças periodontais mais comuns são causadas por infecções microbianas que afetam os tecidos periodontais, degradando, desta forma, o colágeno e levando à perda de inserção conjuntiva do ligamento periodontal e à reabsorção óssea. (PAGE; SCHROEDER, 1976).

A disbiose do biofilme dental, ou seja, a alteração da ecologia microbiana relacionada à saúde, pode levar a quadros clínicos de doenças periodontais. (DARVEAU, 2009). Com o amadurecimento gradual do biofilme dental ocorrem sucessões bacterianas que alteram a ecologia do biofilme relacionado à saúde periodontal, primariamente constituído por bactérias gram-positivas aeróbias, para um biofilme mais complexo composto de bactérias gram-negativas anaeróbias. (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; SOCKRANSKY et al., 1998). Em Periodontia, esse processo marca a ruptura da simbiose do biofilme dental com a saúde tecidual frente ao novo desafio marcado pelo estabelecimento de um biofilme periodontopatogênico, culminando com o desenvolvimento das doenças periodontais. (MARSH, 1994). O controle microbiológico do biofilme é, portanto, o foco da terapia periodontal no qual a cura da doença está intimamente relacionada.

O complexo vermelho, *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Treponema denticola* (Td), *Tannerella forsythia* (Tf), definido por Socransky et al. (1998), e o

Aggregatibacter actinomycetemcomitans são denominados de periodontopatógenos verdadeiros, ou seja são microrganismos anaeróbicos altamente virulentos capazes de iniciar principalmente processos inflamatórios de caráter crônico. Assim, a alteração de um biofilme dental composto por microrganismos simbióticos para outro composto por microrganismos disbióticos patogênicos é responsável pela biomodulação dos mecanismos inflamatórios do hospedeiro, contribuindo para que ocorra destruição dos tecidos periodontais e reabsorção do osso alveolar adjacente ao biofilme periodontopatogênico (DARVEAU, 2009). Tais processos estão relacionados ao aumento da severidade dos parâmetros clínicos da doença periodontal, levando, por exemplo, à constatação de maiores perdas de nível de inserção clínica (NIC), maiores profundidades de sondagem (PS) e aumento dos índices de sangramento marginal e de fundo de bolsa periodontal.

O aumento da severidade das doenças periodontais está diretamente associada ao aumento dos níveis de prostaglandinas, produto direto da quebra do ácido araquidônico pelas cicloxigenases (OFFENBACHER et al., 1993 apud DARVEU, 2009). A prostaglandina, por sua vez, é o principal mediador da perda óssea alveolar. Estudos têm revelado que nos periodontos doentes encontram-se níveis elevados de prostaglandinas (PGE_2) e de leucotrienos B_4 (LTB₄). (PAGE, 1991 apud FERNANDES et al., 2008).

As prostaglandinas são sintetizadas na membrana celular dos fosfolípidios a partir da ação da enzima cicloxigenase (COX). (OFFENBACHER et al., 1993 apud DARVEU, 2009; PAQUETTE; WILLIAMS, 2000). A COX-1 conhecida como a forma constitutiva, é encontrada em quase todas as células e é responsável por funções fisiológicas importantes. Já a COX-2 é expressa em maior quantidade durante a resposta inflamatória. (JOUZEAU et al., 1997; PAQUETTE; WILLIAMS, 2000; STEINMEYER, 2000).

Os osteoclastos, células relacionadas com a reabsorção óssea, podem ser ativados diretamente pelas prostaglandinas, principalmente as da série E. (KAWAGUCHI et al., 1995). A redução na progressão da reabsorção óssea pode ser alcançada devido à inibição da enzima COX-2, sendo esta encontrada em altos níveis nos tecidos periodontais inflamados. (MORTON; DONGARI-BAGTZOGLU, 2001).

Para reduzir a inflamação causada na doença periodontal, utiliza-se com frequência os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs). Essas drogas possuem propriedades analgésicas, antitérmica e anti-inflamatória que inibem a ação das prostaglandinas (enzima derivada do ácido araquidônico que modula a inflamação), através da inativação da cicloxigenase 1 (COX-1, constitutiva) e 2 (COX-2, indutiva) (MENDES et al., 2012) e cicloxigenase 3 (COX-3), uma variação da COX-1, encontrada de maneira mais abundante no córtex cerebral e no coração. (AZOUBEL et al., 2007) .

As drogas anti-inflamatórias não- esteroidais (AINEs) têm seu principal efeito terapêutico decorrente da capacidade de inibir a produção das prostaglandinas, através da inibição das ciclooxigenases. Dentre os AINEs tradicionais, a Indometacina, um derivado do ácido acético, tem propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas; ela é um inibidor não- seletivo de COX, ou seja, inibe tanto a COX-1 quanto a COX-2, além de inibir a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares, deprimir a biossíntese de mucopolissacarídeos e apresentar possível efeito vasoconstritor direto independente de COX. (GOODMAN, 2012). Embora a Indometacina oral tenha excelente biodisponibilidade, ela está associada ao relato de diversos efeitos adversos, sobretudo a nível gastrointestinal, podendo inclusive ser fatais, especialmente para os idosos. Estudos têm mostrado a eficácia da administração de inibidores de COX-2 na supressão da progressão da periodontite induzida em ratos. (BEZERRA et al., 2000; HOLZHAUSEN et al., 2002).

Lasfargues e Saffar (1983) avaliaram o efeito curativo e preventivo da indometacina (2 e 4 mg/kg diariamente) sobre a destruição óssea durante a periodontite experimental em hamsters. O tratamento curativo consistiu em indução da doença periodontal por um período de 45 dias, por meio de uma dieta que permite o acúmulo de biofilme bacteriano. Nas seis semanas subsequentes foi administrada a indometacina por via intraperitoneal. No tratamento preventivo foi administrada a droga por um período de 45 dias. Os resultados demonstraram que houve um aumento da perda óssea no grupo controle, enquanto que o grupo que recebeu a indometacina apresentou uma redução desta perda. A indometacina pareceu ser mais efetiva na redução da perda óssea quando administrada na doença já estabelecida (tratamento curativo) do que no estágio incipiente da doença (tratamento preventivo). Assim, esses estudos experimentais apontam que o uso de

AINEs pode ser benéfico como agente coadjuvante no tratamento da periodontite. Porém, a literatura ainda é escassa em explicar a ação de inibidores da COX-1 no biofilme periodontal. Isso levanta questões sobre a ação dos AINEs na alteração quantitativa do biofilme frente à ação imunomodulatória da droga.

Zhou, Hughes e King (1997) para examinar o efeito da Indometacina sobre a atividade dos osteoclastos residentes, recrutamento de novos osteoclastos e reabsorção radicular em locais de compressão promovidas pelas forças ortodônticas, foram utilizados 96 ratos Sprague-Dawley. Aparelhos ortodônticos foram ativados para fornecer forças mesiais de 40 g sobre os molares superiores. Os dispositivos foram ativados da mesma forma e força por 4 dias. Os ratos foram submetidos à eutanásia no 1, 3, 6 e 10 dias após a ativação inicial. Metade dos ratos foi tratada com indometacina, e a outra metade foi tratada com solução salina. Os autores concluíram que a indometacina inibiu o deslocamento dentário inicial e o movimento tardio. Também reduziu o aumento do número de osteoclastos, a superfície total de osteoclastos e TRAP de osso alveolar ao dia 10, a reabsorção radicular aumentou em ambos os grupos, mas foi reforçada no dia 10 no grupo da indometacina. Os autores afirmam que estes dados sugerem que o movimento do dente após a ativação do aparelho ortodôntico requer o recrutamento de osteoclastos nos locais de compressão e que é sensível à indometacina. Além disso, a indometacina aumentou a reabsorção radicular em locais de compressão 10 dias após a reativação do aparelho.

Nuki et al. (1981) realizaram um estudo para avaliar o efeito da administração de Indometacina (12,5 mg, duas vezes ao dia) e Metronidazol (500 mg, 2 vezes ao dia) sistêmicos, durante o período de 1 semana, sobre a reabsorção óssea em periodontite experimental em cães. Os resultados mostraram que o Metronidazol diminuiu a atividade de reabsorção óssea, em razão da supressão dos microrganismos anaeróbios presentes, os quais produziram fatores que reabsorveriam osso ou por induzirem mudanças nos tecidos adjacentes que levariam à reabsorção óssea. Para o grupo da Indometacina, os resultados não mostraram efeito significativo sobre a inibição da reabsorção óssea, provavelmente devido à dose e o tempo de duração da administração do medicamento, sugerindo que a redução das prostaglandinas não tenha sido suficiente para avaliar tal parâmetro neste grupo.

Devido à ação em mediadores inflamatórios, a indometacina poderia interagir indiretamente com o biofilme bacteriano, levando a uma alteração da microbiota devido sua ação na regulação de prostaglandinas e, indiretamente, no ecossistema do biofilme bacteriano periodontopatogênico. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar a ação da Indometacina (substituiu-se o Meloxicam pela Indometacina devido ser um inibidor mais seletivo para COX-1), AINE inibidor seletivo da COX-1, no biofilme retido nas ligaduras em modelo de periodontite experimental em ratos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente foi enviado para avaliação e aceito pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-USC) sob número de protocolo 28/3. Vinte animais foram escolhidos aleatoriamente para realização dos grupos Teste e Controle (o N inicial era de 30 animais. Porém, devido à uniformidade da amostra, utilizou-se 20 animais, 10 por grupo). Os animais tiveram um de seus 1^{os} molares inferiores, escolhidos por sorteio, para a inserção de ligadura no *baseline* (dia 0), com intuito de indução experimental da periodontite. Os 20 animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos de acordo com a medicação (Realizou-se a alteração do medicamento, de meloxicam para indometacina, esta decisão foi baseada nas evidências científicas de maior ação inibitória de prostaglandinas e redução de efeitos colaterais com uso da indometacina a ser administrada 1x/dia por intermédio de gavagem, durante 7 dias:

- a) G1 (n=10): Indometacina – 5mg/kg;
- b) G2 (n=10): água destilada.

2.1 INDUÇÃO DA PERIODONTITE EXPERIMENTAL

Os animais foram anestesiados por meio da administração intramuscular de ketamina (50-100mg/kg) (Dopalen®; Vetbrands LTDA, Jacareí, SP, Brasil) e xilasina (10 mg/Kg) (Anasedan®; Vetbrands LTDA, Jacareí, SP, Brasil). Os maxilares foram abertos por meio do aparato de Doku modificado e os dentes foram gentilmente espaçados por intermédio de uma lima endodôntica modificada. A inserção desse instrumento foi realizada entre o 1^o e o 2^o molar inferior para prover o espaço necessário para a inserção das ligaduras de algodão (fio de sutura de algodão 4-0). As ligaduras foram posicionadas ao redor de um dos primeiros molares inferiores dos animais pertencentes aos Grupos 1 e 2 de forma a ficarem posicionadas subgingivalmente. Foram realizados três nós simples, travando-os em sua execução. As ligaduras serão fixadas de forma que os nós fiquem posicionados na face mesial do primeiro molar inferior.

2.2 CULTURA MICROBIANA E CONTAGEM DE COLÔNIAS

Previamente à eutanásia dos animais, as ligaduras foram removidas e colocadas em microtubos esterilizados contendo 450µl de solução fluida reduzida de transporte (RTF) descrita previamente por Syed e Loesh (1972). Cada eppendorf contendo a ligadura será agitado em vórtex por 60 segundos (AP 56, Tecnalise, Piracicaba, SP, Brasil) para que o biofilme seja removido da ligadura e dispersado na solução. Com o auxílio de uma pipeta, 50µl da suspensão foram coletados e diluídos em 450µl RTF. Treze diluições sucessivas foram realizadas e alíquotas de 25µl de cada diluição foram semeadas em placas de ágar sangue completo, composto por meio Brucellaagar com hemina e vitamina K 43,1g/L (Sigma ChemicalCo., St Louis, MO, EUA) acrescidos de sangue desfibrinado de carneiro na proporção de 50ml de sangue para 1L do meio. As placas foram previamente divididas em três terços, e cada um foi semeado em triplicata segundo a diluição referente. As placas semeadas foram incubadas em câmara de anaerobiose (Don WhitleyScientific, Bradford, UK) em atmosfera de 80% N₂, 10% de CO₂ e 10% H₂ à temperatura de 37°C, durante 4 dias.

Após desenvolvimento das colônias bacteriana em anaerobioses, foi determinado o número de unidades formadoras de colônia (UFC) através de contagem realizada no contador manual (CP 600, Phoenix Equipamentos Científicos, Araraquara, SP, Brasil).

2.3 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS E COLETA DAS LIGADURAS

Os animais foram eutanasiados por aprofundamento de anestesia a ser administrado via intraperitoneal (tiopental 150mg/kg de peso animal em conjunto com lidocaína 10mg/kg de peso animal)

3 RESULTADOS

As quantificações foram realizadas a partir da contagem manual de unidades formadoras de colônia (UFC) e avaliaram-se o número de UFC grandes, que caracteriza melhor espécies anaeróbias estritas, e o número total de UFC de cada grupo.

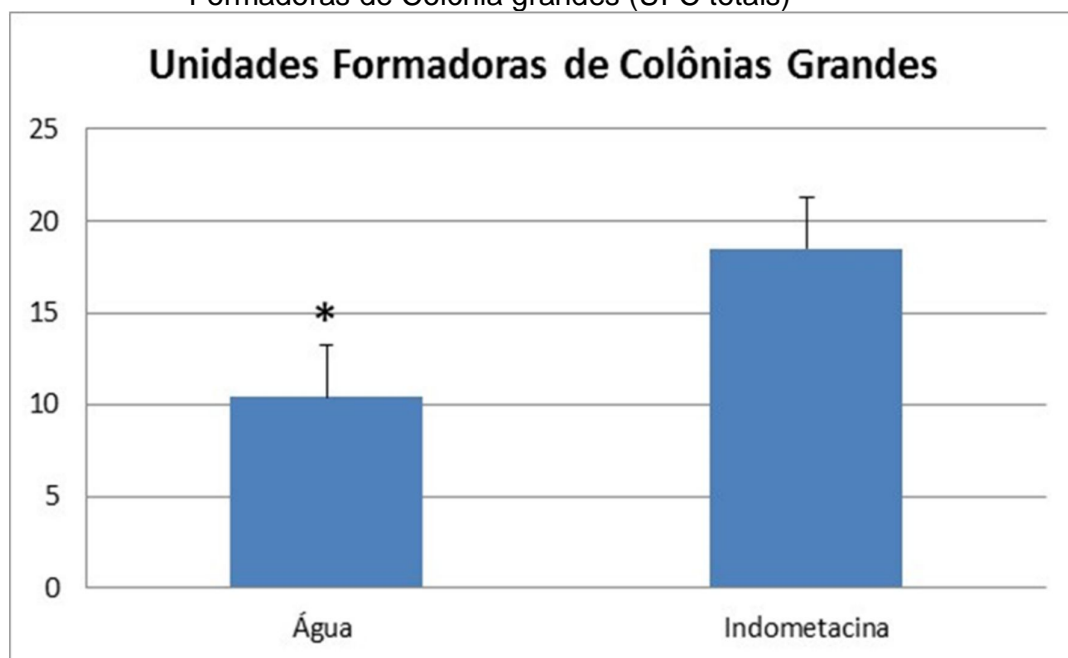
Observou-se que o número de UFC grandes no grupo Indometacina significativamente maior quando comparado ao grupo água ($p=0,028$).

O número total de UFC foi significativamente menor no grupo Indometacina quando comparado ao grupo ao grupo água ($p=0,0008$)

3.1 PARA COLÔNIAS GRANDES

Foi observada distribuição normal das médias pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha=5\%$). Assim, aplicou-se o teste ANOVA e verificando-se diferenças intergrupos, aplicou-se Tukey, considerando-se resultados com diferenças significativas aqueles que apresentaram $p<0,05$.

Figura 1 - Comparação intergrupos (Média \pm Erro Padrão) de Unidades Formadoras de Colônia grandes (UFC totais)

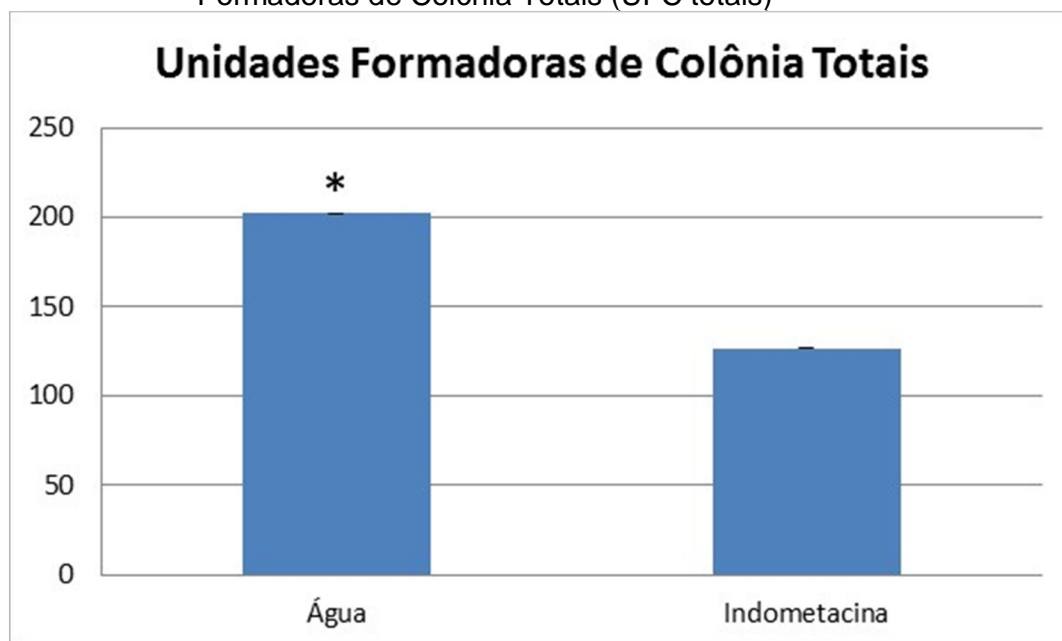


Legenda: Diferenças intergrupos significativas através do teste de Tukey ($p<0,05$).
Nota: Elaborada pela autora.

3.2 PARA COLÔNIAS TOTAIS

Não foi observada distribuição normal das médias pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha=5\%$). Assim, aplicou-se o teste ANOVA e verificando-se diferenças intergrupos, aplicou-se o teste de Tukey, considerando-se resultados com diferenças significativas aqueles que apresentaram $p<0,05$.

Figura 2 - Comparação intergrupos (Média \pm Erro Padrão) Unidades Formadoras de Colônia Totais (UFC totais)



Legenda: Diferenças intergrupos significativas através do teste de Tukey ($p<0,05$).

Nota: Elaborada pela autora.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo avaliou-se o efeito da indometacina sobre as unidades formadoras de colônia (UFC) à partir do biofilme colhido de ligaduras que induziram experimentalmente a periodontite em ratos. Na literatura não há relatos da ação de anti-inflamatórios não esteroidais na microbiota periodontopatogênica, havendo apenas resultados de sua ação sobre a reabsorção óssea alveolar e a redução da inflamação propriamente dita.

Autores mostraram resultados divergentes quanto à ação da indometacina na inibição da reabsorção óssea alveolar na periodontite em estudos experimentais. Azoubel et al. (2007) mostraram uma ação significativa na reabsorção óssea de ratos com periodontite experimental tratados com indometacina, enquanto Williams et al. (1984) não verificaram uma ação inibitória na reabsorção óssea. Essas divergências de resultados levam-nos a crer que há uma possibilidade da indometacina agir indiretamente na ecologia do biofilme periodontal, dependendo da dose e do tempo de administração. Isso pode levar uma seleção periodontopatógenos verdadeiros e, conseqüentemente, interferir no processo da doença periodontal.

No presente estudo, observou-se um aumento significativo de colônias grandes, anaeróbias, relacionada à doença periodontal e uma redução de colônias totais, aeróbias e/ou anaeróbias facultativas, relacionadas à saúde, quando utilizou-se a indometacina. Isso mostra que a administração da droga indometacina pode influenciar indiretamente a microbiota periodontopatogênica, fazendo com que haja seleção de periodontopatógenos e, conseqüentemente, na piora da inflamação e da severidade da doença.

Diferentemente do que nos leva a deduzir dos resultados aqui encontrados no biofilme periodontal, Nyman et al. (1979), mostraram em cães que a administração de indometacina leva a uma diminuição da magnitude da reação inflamatória aguda e da reabsorção óssea e Bezerra et al. (2000), mostraram, em ratos, que a administração da indometacina e do meloxicam no tratamento de periodontite experimental, levaram a uma redução significativa de neutrofilia e linfocitose a níveis compatíveis com aqueles encontrados em ratos não submetidos à periodontite experimental.

A indometacina por mecanismos desconhecidos, parece ter um efeito anti-microbiano sobre bactérias anaeróbicas, mas por limitações de estudos celulares, não se pode afirmar com exatidão esta eficácia anti-microbiana mais estudos devem ser realizados para confirmar essa hipótese.

5 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo pôde-se concluir que a Indometacina aumenta o crescimento de UFC anaeróbias do biofilme periodontal, mas por outro lado, a Indometacina mostrou-se eficaz na redução do número de UFC totais.

REFERÊNCIAS

- ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 4, n. 1, p. 1-6, dec. 1999.
- AZOUBEL, M. C. F. et al. Comparison of etoricoxib and indomethacin for the treatment of experimental periodontitis in rats. **Braz J Med Biol Res.**, Ribeirão Preto, v. 40, n. 1, p. 117-125, jan. 2007
- BEZERRA, M. M. et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **J Periodontol**, Chicago, v. 71, n. 6, p. 1009-1014, jun. 2000.
- DARVEAU, R. P. The oral microbial consortium's interaction with the periodontal innate defense system. **DNA Cell Biol**, Larchmont, v. 28, n. 8, p. 389-395, aug. 2009.
- GOODMAN, G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.
- HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 28, n. 4, p. 283- 295, apr. 2001.
- HOLZHAUSEN, M. et al. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature- induced periodontitis in rats. **J Periodontol**, Chicago, v. 73, n. 9, p. 1030-1036, sep. 2002.
- JOUZEAU, J.Y. et al. Cyclo-oxygenase isoenzymes. How recent findings affect thinking about nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Drugs**, Auckland, v. 53, n. 4, p. 563-582, apr. 1997.
- KAWAGUCHI, H. et al. The role of prostaglandins in the local regulation of bone metabolism. **Clin Orthop Relat Res.**, New York, v. 313, p. 36-46, apr. 1995.
- LASFARGUES, J. J.; SAFFAR, J. L. Effect of indomethacin on bone destruction during experimental periodontal disease in the hamster. **J Periodontal Res**, Malden, v. 18, n. 1, p. 110-117, jan. 1983.
- LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. **J Periodontol**, Chicago, v. 36, p. 177-187, may./jun.1965.
- MARSH, P. D. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. **Adv Dent Res.**, Washington, v. 8, n. 2, p. 263-271, jul. 1994.
- MENDES, R. T. et al. Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: riscos e benefícios. **Rev. Bras. Reumatol.**, São Paulo, v. 52, n. 5, p. 774-782, set./out. 2012.
- MORTON, R. S.; DONGARI-BAGTZOGLU, A. I. Cyclooxygenase-2 is upregulated

in inflamed gingival tissues. **J Periodontol**, Chicago, v. 72, n. 4, p. 461-469, apr. 2001.

NUKI, K. et al. Bone resorbing activity of gingiva from beagle dogs following metronidazole and indomethacin therapy. **J Periodontal Res.**, Malden, v. 16, n. 2, p. 205-212, mar. 1981.

PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol2000**, Copenhagen, v. 14, p. 9-11, jun. 1997.

PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease: a summary of current work. **Lab. Invest.**, Baltimore, v. 34, n. 3, p. 235-249, mar. 1976.

PAQUETTE, D. W.; WILLIAMS, R. C. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. **Periodontol2000**, Copenhagen, v. 24, p. 239-52, oct. 2000.

SHLOSSMAN, M. et al. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 121, n. 4, p. 532-536, oct. 1990.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 25, n. 2, p. 134-144, feb.1998.

STEINMEYER, J. Pharmacological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Arthritis Res**, London, v. 2, p. 379-385, aug. 2000.

WILLIAMS, R. et al. No-esteroidal antiinflammatory drug treatment of periodontitis in beagles. **J. Periodont**, Chicago, v. 19, n. 6, p. 633-637, nov. 1984.

ZHOU, D.; HUGHES, B.; KING G. J. Histomorphometric and biochemical study of osteoclasts at orthodontic compression sites in the rat during indomethacin inhibition. **Arch Oral Biol**, v. 42, n. 10-11, p. 717-726, oct./nov. 1997.

Anexo



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS CEUA - USC

CERTIFICADO

PROTOCOLO N° 28/13

A CEUA USC dentro de suas competências e seguindo normas vigentes no Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA analisou o projeto "AVALIAÇÃO DO EFEITO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERIOIDAIIS SOBRE O TRAUMA OCLUSAL PRIMÁRIO E SECUNDÁRIO EM RATOS", sob a responsabilidade das pesquisadoras Prof.ª Dra. Bella Luna Colombini Ishikiriyama, Prof.ª Dra. Mirella Lindoso Gomes Campos e o considerou APROVADO.

Bauru, 12 de Dezembro de 2013.



Dra. Dulce H. J. Constantino
Presidente CEUA - USC



Francine Souza
Secretária CEUA - USC