

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**MESTRADO EM FARMACOLOGIA CLÍNICA**

**MÁRCIA VIEIRA BARREIRA BARROSO**

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE  
CELECOXIBE E DICLOFENACO NA PERIODONTITE INDUZIDA EM  
RATOS**

**FORTALEZA  
2007**

**MÁRCIA VIEIRA BARREIRA BARROSO**

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE  
CELECOXIBE E DICLOFENACO NA PERIODONTITE INDUZIDA EM RATOS**

*Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia Clínica.*

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vilma de Lima

FORTALEZA  
2007

## **MÁRCIA VIEIRA BARREIRA BARROSO**

### **EFICÁCIA E SEGURANÇA DOS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE CELECOXIBE E DICLOFENACO NA PERIODONTITE INDUZIDA EM RATOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia Clínica

Data de Aprovação: 31/ 07/2007

#### **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vilma de Lima (Co-Orientadora)

Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Negreiros Nunes Alves

Universidade Federal do Ceará

*Dedico este trabalho a meus avôs, que tanto amo e admiro,  
Eduino Ellery Barreira e Jerson Braga Vieira da Fonseca,  
exemplos de humildade, caráter e amizade,  
que procuro seguir em todos os momentos de minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Dirijo meus especiais agradecimentos àqueles que tornaram possível à realização deste trabalho:

Ao meu marido Antonio Botelho Barroso pelo apoio que me sustenta em todo e qualquer momento da nossa convivência, e meus filhos, Rafael e Clarice, pelo constante carinho e compreensão no decorrer deste mestrado.

Aos meus pais, Eduino e Lúcia, pela confiança, dedicação e amor;

À minha orientadora professora Maria Elisabete Amaral de Moraes, que me ensinou e despertou uma paixão pela ensino e pesquisa, além de ser um exemplo de força;

Aos professores Manoel Odorico de Moraes e Fernando Antonio Frota Bezerra por transmitir seus conhecimentos de forma segura, dedicada e gentil;

À professora Ana Paula Negreiros Nunes Alves por ter aceitado em participar da banca examinadora;

À professora Vilma de Lima pela colaboração no desenvolvimento desse trabalho;

À professora Nylane Maria Nunes de Alencar pela sua participação na realização das análises hematológicas e bioquímicas;

À Dra. Laura Andréa Farias Paiva pela realização da análise macroscópica;

À Márcia Maria Marinho e Mônica Café pelo o apoio técnico na execução dessa pesquisa;

À Paula Christine Jimenez pelo apoio na tradução do inglês;

Às bolsistas Renata Botelho Frota e Clarissa Parente pela participação em toda etapa experimental;

Ao Instituto Claude Bernard na pessoa de Malu Fontenele.

Aos meus especiais amigos Fernando André Campos Viana e Marne Vasconcellos, pela alegria e cumplicidade do convívio;

A todos os amigos do Mestrado Profissional pela amizade e companheirismo;

À FINEP, MCT, MS, FUNCAP, CNPq, CAPES e Instituto Claude Bernard (InCB), pelo incentivo no desenvolvimento da pesquisa nacional.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AINEs	Antiinflamatórios não-esteroidais
AST	Aspartato aminotransferase
CLX	Celecoxib
COX-	Ciclooxigenase
DCF	Diclofenaco potássico
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EPM	Erro padrão da média
FDA	Food and Drug Administration (Agência Reguladora de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos)
IL-	Interleucinas
i.p.	Intraperitoneal
LT	Leucotrieno
PE	Periodontite experimental
PG	Prostaglandina
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucléico mensageiro
s.c.	Subcutânea
TGI	Trato gastrintestinal
TNF	Fator de necrose tumoral
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano
UFC	Universidade Federal do Ceará
μM	Micro molar

## LISTA DE FIGURAS

1. Ilustração do periodonto saudável e das doenças periodontais.....	14
2. Efeito do celecoxib (CLX) na perda óssea alveolar na periodontite experimental (PE).....	36
3. Aspecto macroscópico de periodontos de ratos normais (A), de animais submetidos à periodontite experimental tratados com salina (B), com CLX (C).....	37
4. Efeito do Celecoxib sobre o leucograma e plaquetas dos ratos submetidos à periodontite experimental (PE) .....	39
5. Efeito do CLX sobre a variação de massa corpórea de ratos submetidos à periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho .....	40
6. Efeito do CLX sobre as dosagens séricas de Uréia (A), Creatinina (B) e na atividade plasmática da Aspartato aminotransferase-AST (C) dos ratos submetidos à periodontite experimental (PE) .....	42
7. Efeito do diclofenaco potássico (DCF) na perda óssea alveolar na periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho em ratos..	43
8. Aspecto macroscópico de periodontos de ratos normais (A), de animais submetidos à periodontite experimental tratados com salina (B), com DCF (C). .....	44
9. Efeito do DCF sobre o leucograma e plaquetas dos ratos submetidos à periodontite experimental (PE) .....	45
10. Efeito do DCF sobre a variação de massa corpórea de ratos submetidos à periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho .....	46
11. Sobrevida dos animais tratados com diclofenaco (DCF) na periodontite experimental induzida por corpo estranho .....	47
12. Efeito do DCF sobre as dosagens séricas de Uréia (A), Creatinina (B) e na atividade plasmática da Aspartato aminotransferase-AST (C) dos ratos submetidos à periodontite experimental (PE) .....	49

## RESUMO

A periodontite é definida como uma doença inflamatória dos tecidos de suporte dos dentes, causada por microorganismos, caracterizada por infiltração de leucócitos, destruição progressiva dos ligamentos periodontais e osso alveolar. O esclarecimento do papel de prostaglandinas na reabsorção óssea periodontal tem contribuído para a utilização mais racional de fármacos inibidores das ciclooxigenases disponíveis no mercado. Nesse sentido, torna-se necessário o estudo da segurança, não obstante sua eficácia, destes agentes antiinflamatórios não esteroidais, como celecoxib ou diclofenaco potássico. No presente estudo, utilizou-se um modelo de periodontite induzida por corpo estranho em ratos descrito na literatura, com o objetivo de avaliar a capacidade do celecoxib e do diclofenaco potássico. Observou-se que a inserção cirúrgica do fio de náilon no modelo estudado induziu a perda óssea alveolar de forma significativa aos 11 dias. Celecoxib nas doses diárias de 3, 9 e 27 mg/kg foi capaz de inibir a perda óssea alveolar de forma significativa e dose-dependente (64%, 53% e 75,4%, respectivamente). O resultado com diclofenaco nas doses de 1 e 5 mg/kg também reduziu de forma significativa, a perda óssea alveolar (41% e 54,5%, respectivamente). A análise macroscópica dos estômagos mostrou que celecoxib e diclofenaco não promoveram lesões gástricas de forma significativa quando comparados aos animais não tratados. O uso de celecoxib não causou alterações, de forma significativa, no hemograma dos animais submetidos à periodontite. Com diclofenaco, verificou-se uma leucocitose em decorrência do aumento do número de neutrófilos, com maior pico no período compreendido entre o 7º e 11º dia após o procedimento cirúrgico. A não alteração do número de plaquetas do sangue dos animais submetidos à periodontite, inclusive nos animais que receberam celecoxib ou diclofenaco pode sugerir que as doses utilizadas foram relativamente seguras sob o ponto de vista cardiovascular ou ainda, possivelmente, tais alterações não foram vistas por não se tratar de um estudo prolongado. Tanto o celecoxib como o diclofenaco não foram capazes de reverter, de forma significativa, a perda de massa corpórea. As maiores doses de diclofenaco (10 e 25 mg/kg) causaram redução significativa da taxa de sobrevivência dos animais a partir do primeiro dia pós-operatório e atingindo 50% dos animais no terceiro dia. Os resultados mostraram que a indução da periodontite em ratos no grupo controle e no grupo tratado com celecoxib, não alterou as funções renais ou hepáticas avaliadas (uréia e creatinina ou AST). Contudo, o uso de diclofenaco, tanto na dose de 1 mg/kg como também na dose de 5 mg/kg determinou alterações em ambas as funções consideradas, induzindo um aumento significativo nos níveis séricos de creatinina e AST. O diclofenaco e o celecoxib apresentaram efeitos protetores semelhantes na perda óssea. O celecoxib, utilizado na periodontite induzida durante 11 dias, foi menos tóxico que o diclofenaco, uma vez que este causou maior mortalidade de forma dose-dependente, e alterações ao nível de leucograma e das funções renal e hepática.

Palavras chaves: periodontite experimental, celecoxib, diclofenaco.

## ABSTRACT

Periodontitis is an inflammatory disease of the tissue that supports the teeth. It is caused by microorganisms and is characterized by leukocyte infiltration, progressive destruction of the periodontal ligaments, and alveolar bone. The clear role of prostaglandins on periodontal bone resorption has contributed to the rational use of the cyclooxygenase inhibitors drugs available. In this sense, it becomes necessary to bare safety and efficacy studies of the non-steroidal anti-inflammatory agents, such as celecoxib and potassium diclofenac. For the present study, a foreign object induced periodontitis model in rats was used, such as described on specific literature, to evaluate the activity of celecoxib and potassium and diclofenac. A surgical insertion of a nylon tread induced significant alveolar bone loss after 11 days. Celecoxib, given daily at 3, 9 and 27 mg/kg, significantly reduced this loss in a dose-dependent manner (64%, 53% and 75.4%, respectively). Diclofenac produced a similar effect at 1 and 5 mg/kg, reducing the loss by 41% and 54.5%, respectively. Macroscopic analyses of stomachs indicated that neither celecoxib nor diclofenac promoted gastric lesions when compared with non-treated animals. Celecoxib-treated rats did not show significant hemogram parameters alterations when subjected to periodontitis. For diclofenac-treated animals, it was verified a leukocytosis due to the augmentation of neutrophil count, which peaked between the 7<sup>th</sup> and the 11<sup>th</sup> day post-surgery. Platelet number of periodontitis-subjected animals, including those that received celecoxib or diclofenac treatment, was not altered, which may suggest that the doses used are relatively safe from the cardiovascular point of view, or that this alterations was not seen due to the short period of the study. Celecoxib and diclofenac were not able to significantly reverse the loss of body mass. The higher doses of diclofenac (10 and 25 mg/kg/day) significantly reduced the survival rate since the first day after surgery, reaching 50% at day 3. The induction of periodontitis in control and celecoxib-treated rats did not alter renal or hepatic function according to the biochemical parameters evaluated (urea and creatinine or AST). However, diclofenac, at 1 and 5 mg/kg/day, determined alterations in both kidney and liver functions, with a significant increase of seric levels of creatinine and AST. Diclofenac and celecoxib presented similar effects on bone loss prevention. Celecoxib, used for 11 days to induce periodontitis, was less toxic than diclofenac, which caused a dose-dependent mortality and leukogram alterations along with disruption of renal and hepatic functions.

Keywords: experimental periodontitis, celecoxib, diclofenac.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>1.1</b>	<b>Periodonto e Doença Periodontal</b> .....	12
<b>1.2</b>	<b>Mecanismos de Produção da Periodontite</b> .....	15
<b>1.3</b>	<b>Metabolismo do Ácido Araquidônico e a Resposta Inflamatória.</b> .....	16
<b>1.4</b>	<b>Periodontite Experimental</b> .....	19
<b>1.5</b>	<b>Abordagem Farmacológica Utilizada</b> .....	20
1.5.1	Celecoxibe .....	22
1.5.2	Diclofenaco Potássico .....	25
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	28
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	29
<b>3.1</b>	<b>Geral</b> .....	29
<b>3.2</b>	<b>Específicos</b> .....	29
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	30
<b>4.1</b>	<b>Animais</b> .....	30
<b>4.2</b>	<b>Aparelhos e instrumentos laboratoriais</b> .....	30
<b>4.3</b>	<b>Medicamentos, reagentes, soluções, líquidos e corantes</b> .....	31
<b>4.4</b>	<b>Protocolo experimental</b> .....	32
4.4.1	Modelo de periodontite experimental .....	32
4.4.2	Grupos experimentais .....	32
<b>4.5</b>	<b>Parâmetros avaliados na periodontite experimental</b> .....	33
4.5.1	Análise morfométrica da estrutura óssea alveolar .....	33
4.5.2	Análise dos parâmetros sistêmicos .....	33
4.5.3	Análise estatística .....	35
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	36
<b>5.1</b>	<b>Tratamento com Celecoxibe (CLX)</b> .....	36
5.1.1	Efeito do CLX sobre o tecido ósseo alveolar dos ratos submetidos à periodontite induzida por corpo estranho - Análise morfométrica .....	36
5.1.2	Efeito do CLX sobre as alterações sistêmicas dos ratos submetidos à periodontite induzida por corpo estranho .....	38
<b>5.2</b>	<b>Tratamento com Diclofenaco Potássico (DCF)</b> .....	43
5.2.1	Efeito do DCF sobre o tecido ósseo alveolar dos ratos submetidos	

à periodontite induzida por corpo estranho - Análise morfométrica..	43
5.2.2 Efeito do DCF sobre as alterações sistêmicas dos ratos submetidos	
à periodontite induzida por corpo estranho .....	45
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>70</b>

---

## INTRODUÇÃO

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Periodonto e doença periodontal

O periodonto (*peri*=em torno de, *odontos*=dente) existe com o propósito de suportar os dentes durante função e depende de estímulos que recebe para a preservação de suas estruturas. Consiste em tecidos de revestimento e suporte do dente, dividindo-se em duas partes: periodonto de proteção, que compreende a gengiva, e o periodonto de inserção, composto do ligamento periodontal, cemento e osso alveolar (CARRANZA; BERNARD, 2004). O cemento, apesar de ser um tecido dental, é considerado uma parte do periodonto, pois, junto com o osso, ele serve como suporte para as fibras do ligamento periodontal (NEWMAN, 2004; MADEIRA; RIZZOLO, 2005).

Dentre os diversos tecidos, destaca-se o processo alveolar, definido como a porção da maxila e mandíbula que constitui e suporta os alvéolos dentários, a qual é formada quando o dente faz erupção para promover inserção óssea para o ligamento periodontal; quando o dente é perdido, desaparece gradualmente (CARRANZA; BERNARD, 2004). É um tecido mineralizado inervado e vascularizado, que está continuamente sofrendo remodelação como resultado de sua adaptação às necessidades funcionais (HOLMSTRUP, 2001; MADEIRA; RIZZOLO, 2005).

Doença periodontal é um termo comum que envolve diversas condições patológicas que afetam as estruturas de suporte do dente. Estas condições são caracterizadas por infiltração de leucócitos, destruição do ligamento periodontal, reabsorção do osso alveolar e a migração apical do epitélio juncional (KORNMAN, 1996; LASCALA, 1997). As formas comuns de doença periodontal encontradas em humanos são a gengivite e a periodontite. Ambas são respostas inflamatórias crônicas, induzidas por microorganismos da placa dental (bactérias anaeróbicas gram-negativas), que colonizam a área subgengival afetando os tecidos de proteção e sustentação do periodonto (LIU et al., 1996; LASCALA, 1997; HAAKE et al., 2004a; 2004b).

A gengivite associada à placa dental é a forma mais comum de doença gengival, sendo o resultado de uma interação entre os microorganismos encontrados no biofilme dental da placa e os tecidos e células inflamatórias do hospedeiro (NOVAK, 2004). A periodontite é definida como “uma doença inflamatória dos

tecidos de suporte dos dentes, causada por microorganismos específicos ou grupos de microorganismos específicos, resultando em uma destruição progressiva dos ligamentos periodontais e osso alveolar, com formação de bolsas, retrações gengivais, ou ambas” (BECK; ARBES JR., 2004; NOVAK, 2004). A doença progride em ritmos diferentes (Figura 1), com episódios de rápida destruição tecidual alternados com períodos de remissão (LIU et al., 1996; HAAKE et al., 2004a).

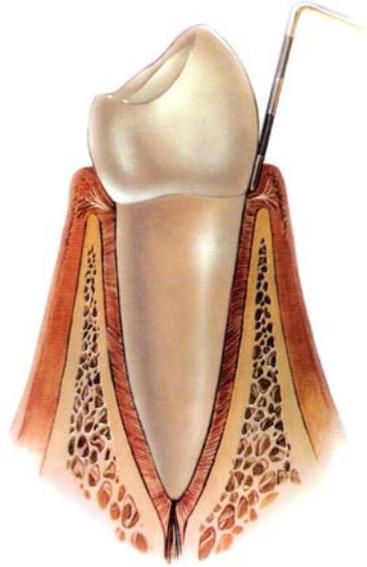
A periodontite é considerada como sendo a principal doença responsável pela perda de dentes em adultos (WILLIAMS, 1990). Sabe-se que o curso temporal dessa patologia envolve, primariamente, a invasão de toxinas de um grande número de microorganismos cultiváveis na placa bacteriana e a conseqüente resposta imunoinflamatória do hospedeiro (LAH et al., 1993; WAHL et al., 1993).

A saúde periodontal pode ser considerada um estado de equilíbrio na qual a população bacteriana coexiste com o hospedeiro, e não ocorre dano irreparável tanto para as bactérias como para os tecidos do hospedeiro. A quebra desse equilíbrio causa alterações tanto no hospedeiro como no biofilme bacteriano, e tem como resultado final a destruição do tecido conjuntivo do periodonto (HAAKE et al., 2004b).

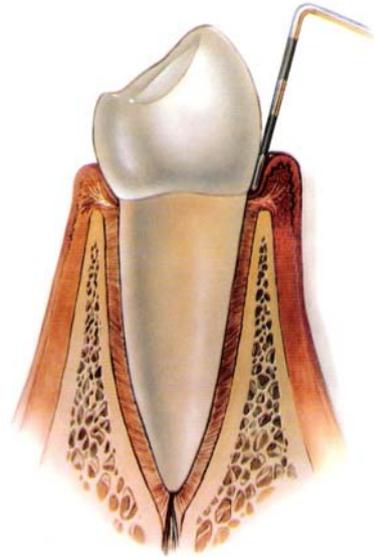
Avanços em ciência e tecnologia no último século expandiram em muito nosso conhecimento sobre a patogênese das doenças periodontais. Embora a doença periodontal seja uma doença infecciosa, estressores ambientais, físicos, sociais e do hospedeiro podem afetar e modificar a expressão da doença (MEALEY; KLOKKEVOLD, 2004). Indivíduos que têm diabetes ou fumam são mais suscetíveis à destruição periodontal quando comparados com indivíduos não fumantes e sem diabetes (SAITO et al., 2003; HAAKE, 2004). Estudos gerados de análises retrospectivas de banco de dados sobre pesquisas em humanos têm sugerido uma relação entre a doença periodontal e as doenças cardiovasculares (EBERSOLE; CAPELLI, 2005).

A influência de fatores sistêmicos do hospedeiro na doença periodontal há tempo foi reconhecida (HAAKE, 2004; MEALEY; KLOKKEVOLD, 2004). Distúrbios sistêmicos que afetam a função de neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos resultam em produção ou atividades alteradas dos mediadores inflamatórios do hospedeiro. Estas alterações podem manifestar-se clinicamente como um início precoce da destruição periodontal ou como uma aceleração da destruição, em comparação com o que ocorreria na ausência de tais distúrbios (MEALEY;

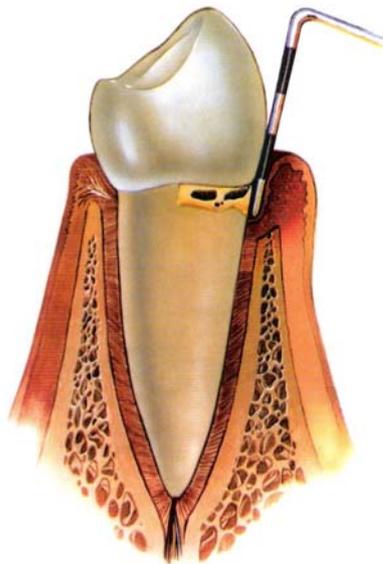
KLOKKEVOLD, 2004). Os fatores do hospedeiro podem agir localmente reduzindo a resistência para a destruição dos tecidos periodontais como um resultado do desafio bacteriano; e o desafio bacteriano pode produzir respostas locais ou sistêmicas que contribuem para a doença sistêmica (HAAKE, 2004).



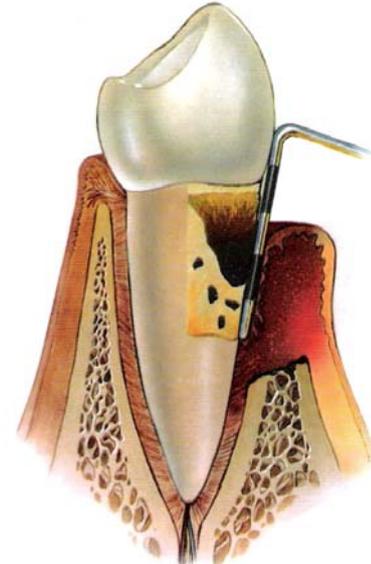
**A - PERIODONTO SAUDÁVEL**



**B - GENGIVITE**



**C - PERIODONTITE EM ESTÀGIO INICIAL**



**D - PERIODONTITE EM ESTÀGIO AVANÇADO**

**Figura 1- Ilustração do periodonto saudável e das doenças periodontais.  
Fonte: GENGIVITE (2008)**

## 1.2 Mecanismos de produção da periodontite

As manifestações clínicas da doença periodontal resultam de uma inter-relação complexa entre os agentes etiológicos, nesse caso bactérias específicas encontradas na placa, e os tecidos do hospedeiro (KORNMAN, 2001; HAAKE, 2004; HOLZHAUSEN et al., 2005).

A inflamação é a característica patológica central, e a placa é o fator etiológico responsável pela indução do processo inflamatório do hospedeiro. Em hospedeiro saudável, pequenas, mas variáveis quantidades de placa bacteriana são controladas pelos mecanismos de defesa do corpo sem destruição final. Bactérias mais específicas na placa estão mais provavelmente associadas com a destruição periodontal. Cepas específicas de espécies patogênicas podem ser mais virulentas do que outras cepas. O acúmulo da placa resulta de higiene bucal ineficaz e é complicado pela presença de fatores locais, tais como cálculo, restaurações desbordantes ou dentes apinhados e mal alinhados (HAAKE, 2004).

A interação dos microorganismos com o hospedeiro determina o curso e a extensão da doença resultante. Microorganismos podem exercer efeitos patogênicos diretamente, por causarem destruição periodontal, ou indiretamente, por estimularem e modularem a resposta do hospedeiro. A resposta do hospedeiro é mediada pela interação microbiana e características inerentes ao hospedeiro, incluindo fatores genéticos que variam entre os indivíduos (HAAKE et al., 2004 b). Em geral, esta resposta funciona como capacidade protetora, prevenindo a infecção local de progredir para uma infecção sistêmica com risco de vida. Entretanto, podem ocorrer alterações locais e destruição dos tecidos do hospedeiro, caracterizando a doença periodontal, conforme foi definido anteriormente (HAAKE et al., 2004b).

A resposta do hospedeiro envolve a geração de alguns mediadores inflamatórios como prostaglandinas (PGs), citocinas, fatores de crescimento, elaboração de enzimas líticas, além do recrutamento de células inflamatórias e ativação de osteoclastos, que formam a base de destruição periodontal (WAHL et al., 1993; ALEXANDER et al., 1996; ASSUMA et al., 1998). As citocinas e os mediadores pró-inflamatórios mostram-se significativamente altos, com inflamação gengival durante a fase destrutiva da periodontite. Os achados clínicos na periodontite têm enfatizado a natureza local da inflamação e destruição tissular dentro da cavidade oral. Uma consequência dessas reações localizadas de

inflamação gengival tem sido a identificação de altos níveis das proteínas de fase aguda no líquido crevicular gengival (EBERSOLE; CAPELLI, 2005).

Dentre os mediadores inflamatórios tem sido dada uma maior importância às prostaglandinas, especialmente à  $PGE_2$  (OFFENBACHER; HEASMAN; COLLINS, 1993; ALEXANDER et al., 1996). Embora os inibidores de PGs sejam capazes de reduzir a perda óssea periodontal, os efeitos desses mediadores são insuficientes para explicar todas as alterações observadas nessa doença (ASSUMA et al., 1998). Mesmo havendo uma extensa literatura a esse respeito, falta ainda uma resposta definitiva sobre o papel da inflamação na periodontite. Isso, provavelmente, está relacionado a pouca compreensão dos mecanismos específicos, através dos quais o processo inflamatório pode mediar a destruição tecidual (ROSSOMANDO; WHITE, 1993; ABDELLAOUI; CASTIONI; GURNY, 2000). Entretanto, alguns estudos, os quais têm demonstrado a possibilidade de se realizar um diagnóstico correto para caracterização da doença periodontal, podem modificar nossas estratégias de diagnóstico e, conseqüente, abordagem terapêutica dessa doença destrutiva (JEFFCOAT; REDDY, 1991; PAQUETTE; WILLIAMS, 1994).

### **1.3 Metabolismo do ácido araquidônico e a resposta inflamatória**

Os metabólitos do ácido araquidônico têm sido considerados os importantes mediadores catabólicos da periodontite desde que eles são potentes estimuladores da reabsorção óssea, presentes nos tecidos gengivais e estão elevados em indivíduos com esta doença (PAQUETTE; WILLIAMS, 2000).

O ácido araquidônico (AA) é liberado a partir dos lipídios de membrana e outros ésteres lipídicos através da ativação da fosfolipase  $A_2$ , produzindo os prostanóides. Uma vez liberado, o AA é substrato de duas importantes classes de enzimas: as ciclooxigenases (COXs), responsáveis pela síntese de PGs (SAVAGE; HENRY, 2004; POURZARANDIAN et al., 2005) e tromboxanos; e as lipoxigenases formando os leucotrienos e as lipoxinas (FLOWER; PERRETTI, 2005).

Pelos mecanismos COX-dependentes, o AA é inicialmente convertido em um composto intermediário denominado  $PGG_2$  pelo sítio ciclooxigenase e em  $PGH_2$  pelo sítio peroxidase. Este não é inibido pelos antiinflamatórios não-esteroidais

(AINEs) (SIQUEIRA Jr.; DANTAS, 2000; BROOKS et al., 1999). Os produtos gerados pela via COX dependem da célula envolvida. Por exemplo, nas plaquetas essa via leva à síntese de tromboxano  $A_2$ ; no endotélio vascular ocorre síntese de prostaciclina ( $PGI_2$ ); nos macrófagos resulta em síntese de  $PGE_2$  enquanto que os mastócitos sintetizam  $PGD_2$  (FLOWER, 1978; OATES et al., 1988; VANE; CORIN, 2003).

Desde o início dos anos 90, foi observado que duas enzimas a COX 1 e COX 2 são responsáveis pela produção de  $PGH_2$ , o passo limitante na biossíntese de prostanóides (CICCONETTI et al., 2004). Prostanóides são mediadores lipídicos ubíquos que coordenam uma ampla variedade de processos fisiológicos e patológicos via receptores de membrana em células alvo. Sob condições fisiológicas, prostanóides têm um papel importante na citoproteção da mucosa gástrica, homeostase e hemodinâmica renal. A biossíntese de prostanóides é induzida em diferentes condições patológicas, incluindo inflamação crônica e câncer (PATRIGNANI et al., 2004).

A expressão das duas isoenzimas COX é regulada diferentemente: o gene de COX-1 tem o perfil de um gene “dona de casa”, enquanto o gene para a COX-2 é um gene de resposta primária com muitos sítios regulatórios (PATRIGNANI et al., 2004).

A COX-1 é uma enzima constitucional de ampla ocorrência (expressa na maioria dos tecidos do corpo humano: musculatura lisa vascular, nas células do estômago, rins e plaquetas), em um nível constante (OTTO; SMITH, 1995; HERSCHMAN, 1996), que produz PGs envolvidas em funções citoprotetoras e reguladoras da mucosa do trato gastrointestinal (TGI), agregação plaquetária e regulação do fluxo sanguíneo renal (EMERY et al., 1999), homeostase (KHAN et al., 2002; SIMMONS; BOTTING; HLA, 2004), cicatrização e ovulação (CICCONETTI et al., 2004). Prostaglandinas gástricas são derivadas quase que exclusivamente da ação da COX-1 (EMERY et al., 1999).

Por outro lado, a COX-2, porém, é uma enzima predominantemente induzida por citocinas inflamatórias e fatores de crescimento em resposta a reações inflamatórias e dano tecidual (como trauma cirúrgico) (CICCONETTI et al., 2004), e produzem PGs que mediam a dor e a inflamação (EMERY et al., 1999). Por exemplo, COX-2 é induzida em fibroblastos gengivais por mediadores inflamatórios tipo interleucina (IL)- $1\beta$ , os quais induzem a produção de  $PGE_2$ , exibindo um

potencial para reparação tecidual (efeito significativo sobre o metabolismo ósseo) no tratamento periodontal (POURZARANDIAN et al., 2005).

Sabe-se que as PGs estão envolvidas no recrutamento de osteoclastos estimulados por IL-1, podendo afetar as células progenitoras dos mesmos, além de promover sua diferenciação (TATAKIS, 1993). As PGs, que estão presentes no tecido esquelético em abundância, também podem ser produzidas pelos osteoblastos e pelas células hematopoiéticas adjacentes. O principal efeito das prostaglandinas *in vivo* consiste em aumentar a renovação óssea, isto é, a estimulação da reabsorção e formação ósseas. As PGs podem mediar os efeitos das forças mecânicas sobre os ossos e algumas das alterações que ocorrem no osso na presença de inflamação. Por fim, as PGs podem desempenhar um papel na perda óssea que ocorre na menopausa (FOEGH; RAMWELL, 2003).

Com exceção do cérebro, órgãos reprodutivos, rins, ossos (CICCONETTI et al., 2004) e na placenta durante o final da gestação (McMURRAY; HARDY, 2002), a COX-2 é expressa em baixas quantidades na maioria dos tecidos normais (mantendo-se num baixo nível basal), mas é aumentada em células inflamatórias ativadas, como macrófagos e sinoviócitos (EMERY et al., 1999). Ou seja, a atividade da COX-2 está normalmente ausente nas células, mas diante de estímulos como mediadores inflamatórios tipo citocinas (IL-1, fator de necrose tumoral-TNF), fatores de crescimento ou mitógenos, sua expressão é aumentada em até 10 a 80 vezes (NOVAES; MELO, 2000). Em modelos animais, COX-2 tem sido indutivelmente expressa dentro de 2-4 horas após o trauma, e dentro de 1-2 horas pós - cirurgia na mucosa da cavidade oral, levando rapidamente à instalação da dor (CICCONETTI et al., 2004).

O sítio de ligação dos AINEs na COX-2 é 25% maior que na COX-1, existindo um local secundário, um sítio catalítico que permite o bloqueio seletivo desta enzima sem afetar a COX-1. Além do AA a COX-2 também pode agir no metabolismo do ácido linoléico e linolênico (KUMMER; COELHO, 2002).

Com base nessas informações foi então sugerido que COX-2 é o alvo relevante para os efeitos dos AINEs, enquanto que a inibição de COX-1 por esses fármacos causaria redução das prostaglandinas necessárias para a citoproteção da mucosa gástrica, fluxo plasmático renal e agregação plaquetária, sendo responsável por ulceração e hemorragia da mucosa gástrica, redução do fluxo sanguíneo renal e

alterações na coagulação sanguínea, efeitos colaterais comuns com o uso crônico dos AINEs (KHAN et al., 2002).

Recentemente, foi demonstrada a existência de uma terceira isoforma das COXs, derivada da COX-1 e que compartilha com esta, propriedades semelhantes em termos de homeostasia. Tal isoenzima, denominada COX-3, parece estar presente preferencialmente a nível cerebral (CHANDRASEKHARAN et al., 2002).

Apesar dos benefícios potenciais dos AINEs na redução da perda óssea alveolar, sabe-se que seu uso pode ser limitado aos efeitos adversos importantes, tais como alterações gastrintestinais, lesões renais, dentre outros. Desse modo, parece ser interessante o estudo de seus efeitos sistêmicos enquanto agentes terapêuticos na periodontite experimental.

#### **1.4 Periodontite experimental**

Diferente de muitas doenças infecciosas humanas, a periodontite é amplamente difundida dentro do reino animal. Vários animais susceptíveis têm sido descritos, incluindo camundongos, ratos, hamsters, gatos, cachorros, raposas, ovelhas, cavalos e primatas não humanos, dentre outros (KLAUSEN, 1991).

Os primatas podem ser considerados o melhor modelo por sua próxima relação com o homem. No entanto, os grandes gastos relacionados nos estudos com esses animais, excluem-nos de experimentos em larga escala (PAGE; SCHROEDER, 1982). Em ratos, doenças periodontais, diabetes e doenças cardiovasculares como pressão alta ou infarto, podem ser experimentalmente induzidas (KUHR et al., 2004). Dessa forma, o rato (*Rattus norvegicus*) é o animal comumente utilizado na Periodontal Experimental (PE), sendo capaz de reproduzir as principais alterações observadas na PE humana (PAGE; SCHROEDER, 1982).

De fato, os ratos possuem vantagens óbvias, comparadas aos primatas, como por exemplo, o fato de serem mais baratos, tanto para a aquisição, quanto para sua manutenção, além de serem mais facilmente manuseáveis e de possuírem características periodontais muito semelhantes às do homem (KLAUSEN, 1991; LIMA, 1999).

Quanto à anatomia e fisiologia do periodonto, os ratos são equipados com um dente incisivo e três molares em cada hemiarcada. Os incisivos são desprovidos de raízes, com crescimento contínuo especializado e, portanto, indesejáveis para o

estudo da PE. Em contraste, a estrutura e a organização dos molares desses animais, em termos de epitélios gengivais, sulcular oral e juncional, de fibras colágenas periodontais, e de cimentos celular e acelular, além do osso alveolar, são muito semelhantes aos humanos (PAGE; SCHROEDER, 1982).

Existem várias maneiras de se induzir a doença periodontal em ratos, como, por exemplo, introduzindo experimentalmente bactérias específicas ou seus próprios produtos (BAB et al., 1979; IJUHIN, 1988). Outro modo de se induzir a PE nestes animais é através da inserção cirúrgica de um fio, em torno do colo de um dos dentes molares, obtendo-se assim, peças anatômicas de fácil mensuração da perda óssea alveolar e excelente reprodutividade dos estudos. Além disso, parâmetros sistêmicos podem ser avaliados durante o curso temporal da doença (LIMA, 1999).

Uma vez estabelecido um modelo animal de periodontite, fármacos diversos têm sido utilizados e mecanismos têm sido sugeridos a cerca dessa patologia. Entretanto, aspectos inerentes aos efeitos adversos de alguns fármacos disponíveis, como AINEs, não estão completamente avaliados. Assim, faz-se necessário uma maior avaliação dos seus efeitos quando utilizados para reduzir a perda óssea alveolar.

### **1.5 Abordagem farmacológica utilizada**

A descoberta do Sir John Vane em 1972 que os AINEs inibem a síntese de prostaglandinas (PGs) levou a apreciação do papel crítico das PGs na defesa da mucosa gástrica. Isso também atuou como um catalisador para as indústrias farmacêuticas tentarem desenvolver drogas antiinflamatórias que poupassem o TGI. Uma estratégia utilizada por muitas indústrias de grande porte são os inibidores seletivos de COX-2. Outra abordagem para reduzir a toxicidade ao TGI de drogas antiinflamatórias envolve o acoplamento de radicais doadores de óxido nítrico (NO) aos AINEs convencionais ou outras drogas antiinflamatórias (WALLACE; SOLDATO, 2003).

As prostaglandinas são inibidas por AINEs convencionais por COX-1 e COX-2, cada uma num nível diferente. A inibição daquelas produzidas por COX-1 pode estar relacionada ao desenvolvimento do efeito adverso comum relacionado aos AINEs (ulceração no TGI superior e na função renal), enquanto que a inibição

de COX-2 resulta em analgesia (efeito terapêutico) (SAVAGE; HENRY, 2004). Esses agentes demonstraram reduzir (até 50%) a incidência de danos graves ao TGI, quando comparados aos AINEs comuns. Entretanto, inibidores seletivos de COX-2 ainda exibem significativa toxicidade renal, interferem com a cicatrização de úlceras gastrintestinais e podem agir como pró-trombóticos e hipertensivos (WALLACE; SOLDATO, 2003).

Por sorte, o risco no uso da maioria dos AINEs em curto prazo é mínimo. Os efeitos colaterais mais sérios ocorrem apenas com o uso duradouro. Existem, no entanto, três classes de anti-hipertensivos que interagem com AINEs inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA),  $\beta$ -bloqueadores e diuréticos. A ação destes fármacos é auxiliada pelas PGs renais. Como o principal efeito dos AINEs é a inibição das PGs, a eficácia destes agentes pode ser diminuída. Tal efeito geralmente leva de 7-8 dias para ocorrer. Assim, o uso de AINEs em pacientes hipertensivos deve ser limitado em 4-6 dias (SAVAGE; HENRY, 2004). Além disso, a supressão da função renal pode aumentar a concentração de digoxina, metotrexato e lítio, todos eliminados pelos rins e possuem baixos índices terapêuticos. AINEs, portanto, devem ser evitados em pacientes tomando esses fármacos ou nos que possuem baixa função renal (SAVAGE; HENRY, 2004).

Os AINEs possuem um efeito na mucosa gástrica e agregação plaquetária, especialmente quando tomados por muito tempo ou em pacientes mais idosos. Quando tomados concomitantemente com anticoagulantes orais, AINEs podem aumentar significativamente o potencial de sangramento. Isto é válido, principalmente com aspirina. AINEs devem ser evitados em pacientes tomando anticoagulantes orais (SAVAGE; HENRY, 2004).

A determinação de algum mediador em um dado evento biológico tem sido feita, principalmente, por abordagens imunológicas, através da utilização de anticorpos específicos. Além disso, são utilizados, extensivamente, métodos bioquímicos e moleculares e abordagens farmacológicas, através de fármacos inibidores da síntese e (ou) da atividade de seus mediadores farmacológicos.

Atualmente dispomos de alguns fármacos com capacidade relativamente seletiva para inibição de importantes mediadores, como o celecoxibe e o

diclofenaco, ambos inibidores da síntese de prostaglandinas. Estes fármacos têm contribuído sobremaneira para a caracterização do perfil desses mediadores químicos envolvidos em diversas alterações fisiopatológicas (LIMA, 2004).

### 1.5.1 Celecoxibe

Grandes esforços têm sido investidos no desenvolvimento de fármacos antiinflamatórios não esteroidais seletivos para a ciclooxygenase tipo dois. Além disso, têm sido requeridas as mesmas potências antiinflamatória e analgésica dos antiinflamatórios convencionais, porém, com maior margem de segurança, especialmente, ao nível do trato gastrintestinal (LIMA, 2004).

Estudos *in vivo* e *ex vivo* mostram que o celecoxibe tem afinidade muito baixa pela COX-1, expressa constitutivamente, tratando-se, pois, de uma nova droga antiinflamatória não esteroidal que age como inibidor relativamente seletivo da COX-2 (CLEMETT; GOA, 2000), mantendo as propriedades antiinflamatórias e analgésicas e com poucos efeitos gastrintestinais em animais e voluntários sadios (EMERY et al., 1999).

Essa enzima é induzida em resposta a estímulos nocivos, o que conduz à síntese e ao acúmulo de prostanóides inflamatórios, em particular, as prostaglandinas E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Isto, conseqüentemente, causa inflamação, edema e dor (VANE; BAKHLE; BOTTING, 1998). Em doses terapêuticas, o celecoxibe não possui efeito sobre os prostanóides sintetizados pela ativação da COX-1. Portanto, não interferem nos processos fisiológicos normais teciduais relacionados a esta enzima, particularmente no estômago, intestinos, plaquetas e rins (MASFERRER et al., 1994; SMITH et al., 1998).

O celecoxibe é extensivamente metabolizado em humanos através de uma via simples oxidativa, o mesmo sendo observado em ratos (PAULSON et al., 2000a, 2000b). Entretanto, a distribuição e a excreção dessa droga diferem entre humanos e animais. O celecoxibe age como um agente antiinflamatório, analgésico e antipirético por bloquear a produção de prostanóides inflamatórios, via inibição da COX-2, através da formação tempo-dependente de um complexo enzima-inibidor fortemente ligado. Essa ligação não é covalente, mas se dissocia muito lentamente (CLEMETT; GOA, 2000).

A sua absorção é reduzida em 20-30% na presença de alimento, e sua meia vida-efetiva é cerca de onze horas. Liga-se altamente às proteínas e é metabolizado pela CYP2C9. Por conseguinte, sua depuração diminui em cerca de 80% na presença de comprometimento hepático moderadamente grave (FURST; MUNSTER, 2006).

Em 1998, o celecoxibe, devido aos seus efeitos analgésicos e antiinflamatórios, foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) e European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) para o tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite e para o alívio da dor aguda associada à cirurgia dentária e dismenorréia primária (PAULSON et al., 2000b; CICCONE et al., 2004).

O celecoxibe é eficaz numa dose de 100-200 mg, duas vezes ao dia, para o tratamento da artrite reumatóide e osteoartrite, e não parece haver nenhum aumento de sua eficácia em doses diárias de até 1.200 mg. É tão eficaz quanto outros AINEs na artrite reumatóide e na osteoartrite; em estudos clínicos, tem causado menos úlceras endoscópicas do que a maioria dos outros AINEs. Ainda não foi publicado nenhum estudo sobre a incidência relativa de úlceras pépticas clinicamente importantes e sangramento com o uso regular da droga. Por ser uma sulfonamida, houve temor quanto a um aumento da incidência de erupções cutâneas após a administração de celecoxibe. Todavia, esses temores até hoje não se confirmaram na prática clínica. O celecoxibe não afeta a agregação plaquetária. Em certas ocasiões, interage com a varfarina, conforme esperado por uma droga metabolizada através da CYP2C9 (FURST; MUNSTER, 2006).

Estudos de larga escala de inibidores de COX-2, o CLASS e o SUCCESS, ambos com o celecoxibe, examinaram a segurança gastrointestinal em mais de 39 mil pacientes com dor crônica (osteoartrite e artrite reumatóide) em diferentes populações de pacientes com idade entre 18 e 95 anos (SCHEIMAN, 2002). O resultado destes estudos mostrou que pacientes tomando celecoxibe tinham uma taxa significativamente mais baixa de úlceras gastroduodenais que aqueles tomando AINEs tradicionais (naproxeno, ibuprofeno ou diclofenaco) (CICCONE et al., 2004). Corroborando esses resultados, outros autores demonstraram que existe uma redução aparente de 50% na incidência de efeitos adversos no TGI associado às coxibs (FITZGERALD; PATRONO, 2001).

De fato, os inibidores seletivos de COX-2 possuem uma segurança renal similar às AINEs tradicionais, uma vez que as duas isoformas de COX são

constitutivamente expressas nos rins. No córtex renal, a enzima COX-2 aumenta em resposta a uma dieta rica em sal ou privação de água. Assim, uma alta inibição de COX-2 pode alterar o fluxo de sangue nos rins, formação de urina e o equilíbrio de sal e água, levando à hipertensão (HARRIS, 2002). Dados do Sistema de Eventos Adversos do FDA indicam que a tolerância renal de inibidores seletivos de COX-2 em pacientes com funções renais normais ou debilitadas são similares às aquelas observadas com AINEs tradicionais, mesmo após uma terapia de curto prazo (CICCONETTI et al., 2004). Pacientes com risco de danos renais severos com inibidores seletivos de COX-2 são aqueles com distúrbios renais pré-existent, paradas cardíacas, disfunções hepáticas, que se encontram tomando diuréticos e/ou inibidores da ECA e os idosos (HARRIS, 2002).

Dados liberados recentemente a partir de ensaios clínicos com inibidores de COX-2 (celecoxibe e valdecoxibe) mostraram que estes fármacos, assim como o rofecoxib retirado do mercado em setembro de 2004 pela Merck Sharp & Dohme, estão relacionados com o aumento do risco de eventos cardiovasculares (MITCHELL; EVANS, 1998), especialmente quando usados por um longo período de tempo e em situações de maior risco (pós-cirúrgico). Inibidores seletivos de COX-2 deprimem prostaciclina ( $PGI_2$ ), um agente ateroprotetor (inibidor da agregação plaquetária), mas não tromboxanos ( $TXA_2$ ) derivados de COX-1, um mediador pró-agregante e vasoconstritor. Tal desequilíbrio, prostaciclina-tromboxano, pode predispor pacientes a ataques cardíacos e acidente vascular cerebral (PATRIGNANI et al., 2004; PINHO et al., 2004).

Sabe-se, ainda, que inibidores de COX-2 podem bloquear a neovascularização e que a COX-2 pode induzir a angiogênese por estimular o fator basal de crescimento de fibroblastos através da indução do fator de crescimento epidérmico (EGF) em modelo em ratos (MAJIMA et al., 2000). Há evidências de que a super-expressão de COX-2 em tumores estão relacionadas com a inibição do mecanismo de apoptose e que inibidores de COX-2 induzem a resposta apoptótica. Mais além, é sabido que  $PGE_2$  pode ter propriedades imunossupressoras, permitindo o escape do tumor aos mecanismos de vigília do hospedeiro (PRESCOTT, 2000). Estudos sugerem que os AINEs tradicionais e inibidores seletivos de COX-2 são promissores no tratamento de alguns tipos de cânceres (THUN; HENLEY; PATRONO, 2002). Celecoxibe foi aprovado para o tratamento da

polipose adenomatosa familiar pelo FDA baseando-se na sua superioridade ao placebo em induzir a regressão do pólipó (STEINBACH et al., 2000).

Em estudos de dor no pós-operatório dental, uma única dose de celecoxibe (200 mg) foi tão eficaz na analgesia quanto aspirina (650 mg), mas foi inferior ao ibuprofeno (400 mg) e naproxeno (550 mg), tendo sido calculado pelo tempo de instalação do alívio da dor ao alívio máximo; e mesmo em dose de 400 mg, celecoxibe foi inferior ao naproxeno (550 mg) (DOYLE et al., 2002; CICCONE et al., 2004).

Em estudos clássicos da inflamação, o celecoxibe reduziu o processo inflamatório nas doses de 10 e 50 mg/kg em modelo de edema de pata de ratos induzido por zimosan. Contudo, nas doses de 100 e 200 mg/kg, o celecoxibe não apresentou tais efeitos, demonstrando, de fato, que o celecoxibe perde sua eficácia antiinflamatória em doses mais elevadas (NIEDERBERGER et al., 2001).

Corroborando esses achados, tem sido descrito que o celecoxibe, tanto em concentrações baixas como 1 e 10  $\mu\text{M}$ , como em concentração mais alta de 50  $\mu\text{M}$ , foi capaz de inibir significativamente a liberação de  $\text{PGE}_2$  induzida por  $\text{IL-1}\beta$ . Entretanto, nesta concentração mais elevada, o celecoxibe induziu um aumento significativo da expressão de COX-2 (NIEDERBERGER et al., 2001).

Desse modo, o celecoxibe tem sido considerado uma importante ferramenta para o tratamento de condições inflamatórias diversas, onde a inibição da isoenzima COX-2 seja de fundamental relevância para o processo terapêutico (LIMA, 2004).

#### 1.5.2. Diclofenaco potássico

O diclofenaco é um derivado simples do ácido fenilacético, que se assemelha ao flurbiprofeno e meclofenamato. Trata-se de um potente inibidor relativamente não-seletivo da ciclooxigenase, que também diminui a biodisponibilidade do ácido araquidônico (FURST; MUNSTER, 2006), e, conseqüentemente, a produção de PGs implicadas na dor e na inflamação (BARDEN et al., 2004).

Similarmente a outros AINEs, possuem propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antipiréticas farmacologicamente desejáveis, todas basicamente resultantes da inibição da ciclooxigenase do ácido araquidônico nas células

inflamatórias (COX-2) e da conseqüente redução na síntese de prostanóides (HERSH et al., 2004; RANG et al., 2004). Diclofenaco é aproximadamente 3 vezes mais seletivo para bloquear COX-2 que COX-1 quando comparado com outros AINEs convencionais; isto pode explicar seu efeito menos intenso na agregação plaquetária comparado a outros AINEs, que preferencialmente bloqueiam COX-1 (HERSH et al., 2004). Mais além, outros mecanismos de ação analgésica foram descritos para diclofenaco, incluindo a inibição da COX no Sistema Nervoso Central (SNC), ativação de opiáceos endógenos centrais, aumento de óxido nítrico central e periférico e formação de GMP cíclico, e redução das concentrações de AA em certas células inflamatórias (HERSH et al., 2004). O diclofenaco reduz a inflamação e a dor reumática pela inibição das prostaglandinas, afeta a função dos leucócitos polimorfonucleares reduzindo a quimiotaxia e a produção de protease neutra bem como a expressão de L-selectina, E-selectina, ICAM-1 e moléculas de adesão (VCAM-1) (MARTINEZ et al., 2005).

O fármaco é rapidamente absorvido após administração oral, porém a sua biodisponibilidade sistêmica é de apenas 30-70%, devido ao metabolismo de primeira passagem, e possui meia-vida de 1-2 horas. À semelhança do flurbiprofeno, o diclofenaco acumula-se no líquido sinovial e, nesse compartimento, apresenta meia-vida de 2-6 horas. O metabolismo a metabólitos inativos é efetuado pelo CYP3A4 e CYP2C9, de modo que a disfunção renal não influencia significativamente a depuração. A excreção biliar pode ser responsável por até 30% da depuração total (FURST; MUNSTER, 2006).

Ocorrem efeitos adversos em cerca de 20% dos pacientes, incluindo distúrbio gastrointestinal, sangramento gastrointestinal oculto e ulceração gástrica, embora o desenvolvimento de ulceração possa ser menos freqüente do que com alguns outros AINEs (FURST; MUNSTER, 2006). Esses eventos gastrointestinais adversos resultam principalmente da inibição da COX-1, uma vez que a ação da COX-1 é responsável pelas sínteses das prostaglandinas que normalmente inibem a secreção de ácido e que possuem ação protetora sobre a mucosa (RANG et al., 2004). Uma preparação associando o diclofenaco com misoprostol diminui a ulceração gastrointestinal superior, mas pode resultar em diarréia. Pode ocorrer elevação dos níveis séricos das aminotransferases mais comumente com essa droga do que com outros AINEs (FURST; MUNSTER, 2006).

A administração de doses terapêuticas de AINEs a indivíduos sadios representa pouca ameaça para a função renal; todavia, em pacientes suscetíveis, esses fármacos provocam insuficiência renal aguda, que é reversível com a interrupção da droga. Esse efeito deve-se à inibição da biossíntese dos prostanóides ( $PGE_2$  e  $PGI_2$ ) envolvidos na manutenção da dinâmica sangüínea renal e, mais particularmente, na vasodilatação compensatória mediada pela  $PGE_2$  que ocorre em resposta à ação da noradrenalina ou da angiotensina II (RANG et al., 2004).

Estudos mostram que o diclofenaco potássico foi geralmente bem tolerado em pacientes com cefaléia dispensando um alívio rápido da dor (de 60 a 90 minutos) e reduzindo a freqüência dos sintomas relacionados (dores abdominais, cansaço, fadiga e náuseas) (McNEELY; GOA, 1999).

Existe, também, uma preparação oftálmica, que é recomendada para a prevenção da inflamação oftálmica pós-operatória. Na Europa, o diclofenaco também está disponível na forma de preparação dermatológica e para administração intramuscular (FURST; MUNSTER, 2006).

Tem sido descrito que o diclofenaco oral em doses únicas para tratamento da dor pós-operatória moderada a grave, não causa diferenças significativas na incidência de efeitos colaterais, quando comparado ao placebo, ou entre as formulações sódicas ou potássicas. Isto pode ser observado em diferentes modelos de dor, em ensaios clínicos variados (BARDEN et al., 2004).

## 2 JUSTIFICATIVA

As doenças periodontais, em suas várias formas, afligem a espécie humana desde os primórdios da História. Dados recentes indicam que as periodontites podem ter um impacto significativo em condições sistêmicas, tais como a ocorrência de doenças cardíacas, infarto ou nascimento pré-termo de bebês com baixo peso (HAAKE, 2004). Acrescentando-se o fato de que a periodontite crônica é considerada como a principal doença responsável pela perda dos dentes em adultos (WILLIAMS, 1990), o controle dessa doença, além dos benefícios locais sobre o periodonto, pode repercutir de forma sistêmica para o indivíduo.

O esclarecimento do papel de prostaglandinas na reabsorção óssea alveolar tem contribuído para a utilização mais racional de fármacos inibidores das ciclooxigenases disponíveis no mercado. Nesse sentido, torna-se necessário o estudo da segurança, não obstante sua eficácia, destes agentes antiinflamatórios não esteroidais, como celecoxibe ou diclofenaco potássico.

A escolha de comparar o celecoxibe ao diclofenaco potássico decorreu por ser este último um AINE comumente prescrito na clínica odontológica (EMERY et al., 1999), cujo uso vem sendo substituído pelos inibidores de COX-2, como o celecoxibe. Portanto, parece ser relevante o conhecimento destes achados para aplicação em estudos clínicos com pacientes portadores de doença periodontal.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Avaliar a perda óssea e a segurança de inibidores seletivos ou não das ciclooxigenases, celecoxibe e diclofenaco potássico, respectivamente, na periodontite induzida em ratos.

#### **3.2 Específicos**

Analisar a estrutura óssea alveolar por meio de estudo morfométrico.

Analisar os parâmetros sistêmicos por meio de estudos hematológicos, bioquímicos e da variação de massa corpórea.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar (Rattus norvegicus)* machos, com massa corpórea entre 180 e 220 gramas. Esses animais eram procedentes do Biotério Central do Campus do Pici – Universidade Federal do Ceará (UFC), transferidos para o Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFC, acondicionados em gaiolas apropriadas, em número de 6 animais em cada uma delas e mantidos em estantes ventiladas, com controle do ciclo circadiano a cada 12 horas. Todos receberam ração comercial balanceada e água à vontade, e permaneceram nas mesmas condições ambientais durante os experimentos.

O protocolo utilizado foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Animais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (Anexo A).

### 4.2 Aparelhos e instrumentos laboratoriais

Os aparelhos e instrumentos laboratoriais utilizados para a indução da periodontite em ratos estão descritos a seguir:

Algodão e gaze;

Balança analítica (METTLER TOLEDO AB 204-S);

Balança para pesagem de animais (FILIZOLA BP6);

Base emborrachada para permanência do animal;

Bastões de vidro;

Béqueres de 20, 50 e 100 mL (Ex.: Simax, Pirex, etc.);

Contador automatizado de células (Sysmex SE 9500, ano 2002);

Caneta marcadora permanente;

Espátulas de metal;

Etiquetas adesivas (tipo as de “preço” de mercadorias);

Fios de náilon para sutura 3.0 (Suture point®; 1 caixa de 24 envelopes);

Geladeira e freezer (-20° C);

Instrumental cirúrgico (porta-agulha médio de Mayo, pinças curvas microdente de rato, tesouras, agulhas, etc.) e outros instrumentos auxiliares;

Lâminas de vidro;  
Luminária de luz branca (fluorescente);  
Luvas descartáveis;  
Massa de modelar (material escolar);  
Micropipetas automáticas 1000 µL e 200 µL (GILSON®);  
Microscópio óptico binocular;  
Micrótomo;  
Placas de Petri (pequenas e grandes);  
Ponteiras para 200 e 1000 µL;  
Seringas de 1,5 e 10 mL e agulhas 29G e 25G (BENSON-DIKSON®);  
Tubos capilares para determinação de micro-hematócrito ( $\varnothing$  interno de 1 mm e  $\varnothing$  externo de 1,5 mm);  
Tubos de ensaio de vidro pequenos ou médios;  
Tubos Eppendorf – 1,5 mL.

#### **4.3 Medicamentos, reagentes, soluções, líquidos e corantes**

Os medicamentos, reagentes, soluções, líquidos e corantes utilizados foram:

Celecoxibe: cápsulas de 100 mg - Celebra® (Searle, São Paulo, Brasil);  
Diclofenaco potássico: ampola de 75 mg - Cataflam® (Novartis, São Paulo, Brasil);  
Ácido nítrico 10% (Reagen®);  
Álcool etílico 70% (Reagen®);  
Hidrato de Cloral 10% (Reagen®);  
Formaldeído 10% (Reagen®);  
Soro fisiológico 0,9% (NaCl 0,15M), frasco de 500 mL; preferência por vários frascos de 10 ou 50 mL;  
Sulfato de Sódio 5% (Reagen®);  
Éter etílico;  
Água destilada;  
Corante azul de metileno 1% (Sigma®).

## 4.4 Protocolo experimental

### 4.4.1 Modelo de periodontite experimental

Foi utilizado o modelo de periodontite experimental (LIMA *et al.*, 2000, 2004), o qual consiste em inserir, cirurgicamente, um fio de sutura de náilon 3.0, em torno do segundo molar superior esquerdo de um rato anestesiado com hidrato de cloral a 10% (300 mg/kg), via intraperitoneal (i.p.). Previamente à passagem do fio, uma guia foi utilizada nos espaços interproximais mesial e distal do dente citado. Logo em seguida, o fio foi passado, de forma que o nó cirúrgico ficasse voltado para a face vestibular da boca do rato. Os animais foram sacrificados no 11º dia, referente ao dia de pico das lesões (LIMA *et al.*, 2000, 2004).

### 4.4.2 Grupos experimentais

#### A - Grupos controles

Esses grupos foram constituídos por 6 ratos cada, submetidos à periodontite. Os animais receberam injeções de solução salina a 0,9% (0,5 mL), administrada por via subcutânea, uma hora antes da instalação do fio e após este, diariamente por um período de onze dias, sendo então, sacrificados.

#### B - Grupos tratados com celecoxibe

Os animais foram subdivididos em 3 grupos de 6 ratos cada, os quais receberam celecoxibe (Celebra<sup>®</sup>, Pfizer), nas doses de 3, 9 e 27 mg/kg, respectivamente, administradas por via subcutânea, 1 hora antes da instalação do fio e após este, diariamente, até 11º dia.

#### C - Grupos tratados com diclofenaco potássico

Os animais foram subdivididos em 4 grupos de 6 ratos cada, os quais receberam diclofenaco potássico (Cataflam<sup>®</sup>, Novartis), nas doses de 1, 5, 10 e 25

mg/kg, respectivamente, administradas por via subcutânea, 1 hora antes da instalação do fio e após este, diariamente, até 11º dia.

#### **4.5 Parâmetros avaliados na periodontite experimental**

##### **4.5.1 Análise morfométrica da estrutura óssea alveolar**

Para avaliar a perda óssea na periodontite experimental foi realizada análise morfométrica. As hemiarcadas contralaterais, sem periodontite experimental, foram utilizadas como controle.

No 11º dia após o procedimento cirúrgico, os animais foram sacrificados e suas maxilas removidas e fixadas em formol a 10%, durante 24 horas. Passado este período, as maxilas foram separadas em duas hemiarcadas, dissecadas e coradas com azul de metileno a 1%, a fim de se obter um contraste do osso com os dentes, os quais se coram com menos intensidade. Para a quantificação da reabsorção óssea, as duas hemiarcadas foram acomodadas em lâminas para posterior análise. As hemiarcadas foram fotografadas ao microscópio óptico (aumento de 4x) e as áreas de reabsorção alveolar foram medidas, considerando a junção cimento-esmalte e o osso alveolar remanescente, e expressas em mm<sup>2</sup> (KUHR et al., 2004).

##### **4.5.2 Análise dos parâmetros sistêmicos**

###### **A – Estudo hematológico**

Para o estudo hematológico amostras de sangue foram colhidas imediatamente antes da cirurgia, 6 e 24 horas após e nos 7º e 11º dias pós-cirúrgicos. Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral a 10% (300 mg/kg; i.p.) e o sangue foi colhido do plexo orbital com microcânulas para contagens de leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas em contador automático SYSMEX®, modelo SE 9500, ano 2002 (Laboratório Louis Pasteur, Fortaleza-Ce). Em seguida foi feita hemostasia com um chumaço de algodão.

B – Análise da variação de massa corpórea

Todos os animais tiveram suas massas corpóreas medidas antes da cirurgia e, após esta, diariamente, durante os 11 dias do período experimental. Os valores encontrados foram expressos como a variação de massa corpórea (g), em relação à massa inicial.

C – Análise macroscópica dos estômagos

No 11º dia do procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados e sacrificados, foram abertas as cavidades peritoneais e removidos os estômagos, os quais foram instilados com 5 ml de solução de formalina a 5% e espera de 10 minutos. Decorrido este tempo, os estômagos foram abertos ao longo da grande curvatura, lavados com solução salina e inspecionados para as atribuições de escores de acordo com os critérios de Szabo et al., (quadro abaixo), onde foram consideradas perdas de pregas da mucosa, descoloração, edema, presença de hemorragia, número de petéquias e intensidade de ulcerações (SZABO et al., 1985):

<b>Crítérios de Szabo et al., (1985)</b>	
Perda de prega	1 ponto
Descoloração de mucosa	1 ponto
Edema	1 ponto
Hemorragia	1 ponto
Número de petéquias: até 10	2 pontos
Número de petéquias: > 10	3 pontos
Úlceras (intensidade):	
úlceras ou erosão de até 1 mm	(n x 2) pontos
úlceras ou erosão > 1 mm	(n x 3) pontos
úlceras perfuradas	(n x 4) pontos
Obs.: n = número de úlceras encontradas	

### D – Dosagens bioquímicas

Amostras de sangue foram colhidas a partir do plexo orbital em tubos Eppendorf imediatamente antes da colocação do fio em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos anestesiados e aos 11 dias. Tais amostras foram utilizadas para as dosagens séricas de uréia e creatinina para a avaliação da função renal e de aspartato aminotransferase (AST) para avaliar a função hepática.

#### 4.5.3 Análise estatística

A maioria dos resultados, como peso, leucograma e análise morfométrica macroscópica, foram expressas como Média±EPM, acompanhada do número de observações (n). Para comparações entre os grupos foram utilizados: Análise de Variância (ANOVA) e teste de Bonferroni.

Na análise macroscópica da mucosa gástrica, os dados obtidos foram expressos como Mediana e os testes estatísticos aplicados foram Análise de Variância (ANOVA) e teste de Bonferroni.

Na análise de sobrevida o teste aplicado foi o de Kaplan-Meier.

Em todas as situações, foi adotado o nível de significância  $P < 0,05$ .

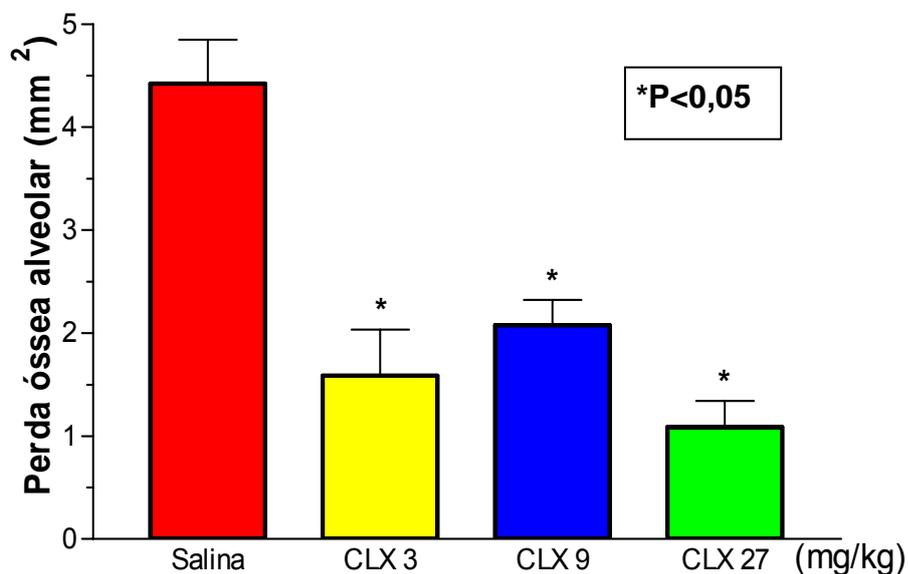
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Tratamento com Celecoxibe (CLX)

#### 5.1.1 Efeito do CLX sobre o tecido ósseo alveolar dos ratos submetidos à periodontite induzida por corpo estranho - Análise morfométrica

A figura 2 mostra o efeito do tratamento com celecoxibe nas doses de 3, 9 e 27 mg/kg e salina a 0,9%, administradas por via subcutânea, 1 hora antes da colocação do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores dos ratos e, após esta, diariamente até o 11º dia do procedimento cirúrgico.

Observou-se que o celecoxibe foi capaz de inibir, de forma significativa ( $P < 0,05$ ) e dose-dependente, a perda óssea alveolar, representando redução na reabsorção óssea na face vestibular das maxilas em 64%, 53% e 75,4%, respectivamente.

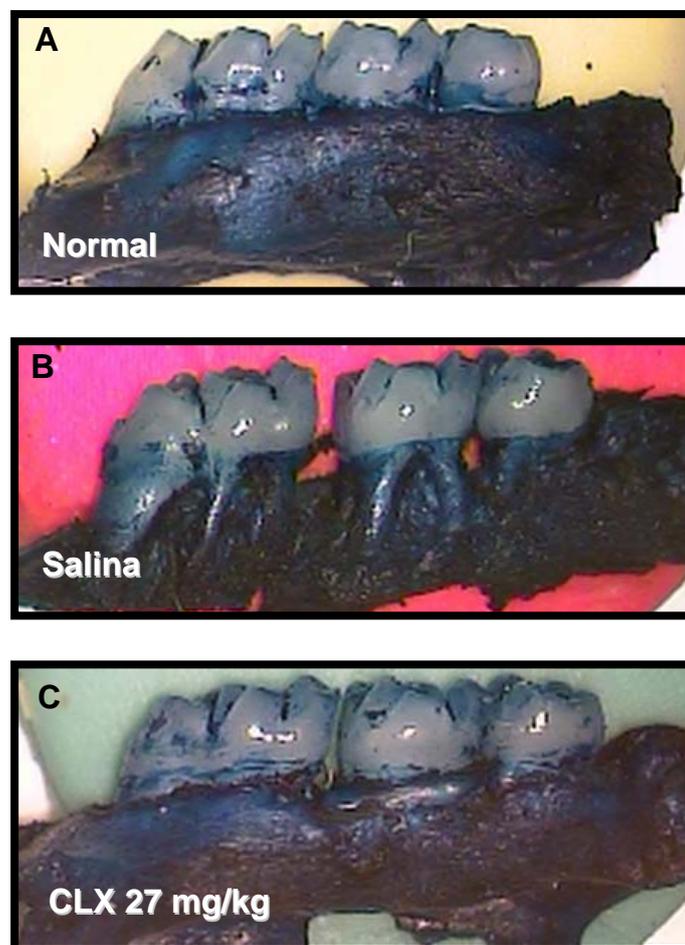


**Figura 2: Efeito do celecoxibe (CLX) na perda óssea alveolar na periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho em ratos- Análise morfométrica.**

CLX (3, 9 e 27 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados diariamente e 1 hora antes da indução da PE através da inserção cirúrgica do fio de

náilon em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos. Os animais foram sacrificados após 11 dias de procedimento cirúrgico. As barras representam médias  $\pm$ EPM de 6 ratos com PE. \* $P < 0,05$  indica diferenças estatísticas em relação ao grupo controle (salina) (ANOVA, Bonferroni).

Na figura 3, observa-se o aspecto macroscópico da hemiarcada superior esquerda de um rato submetido a PE e sua hemiarcada contralateral, utilizada como controle.



**Figura 3: Aspecto macroscópico de periodontos de ratos normais (A), de animais submetidos à periodontite experimental tratados com salina (B), com CLX (C).**

Os animais foram submetidos à indução da PE introduzindo-se o fio de náilon em torno do segundo molar; foram sacrificados no 11º dia após o procedimento cirúrgico; suas maxilas removidas, fixadas em formol a 10%, coradas

com azul de metileno a 1% e fotografadas. As áreas de reabsorção óssea foram medidas considerando a junção cimento-esmalte e o osso alveolar remanescente.

A fotografia **A** mostra a hemiarcada contralateral, cujo periodonto apresenta-se íntegro.

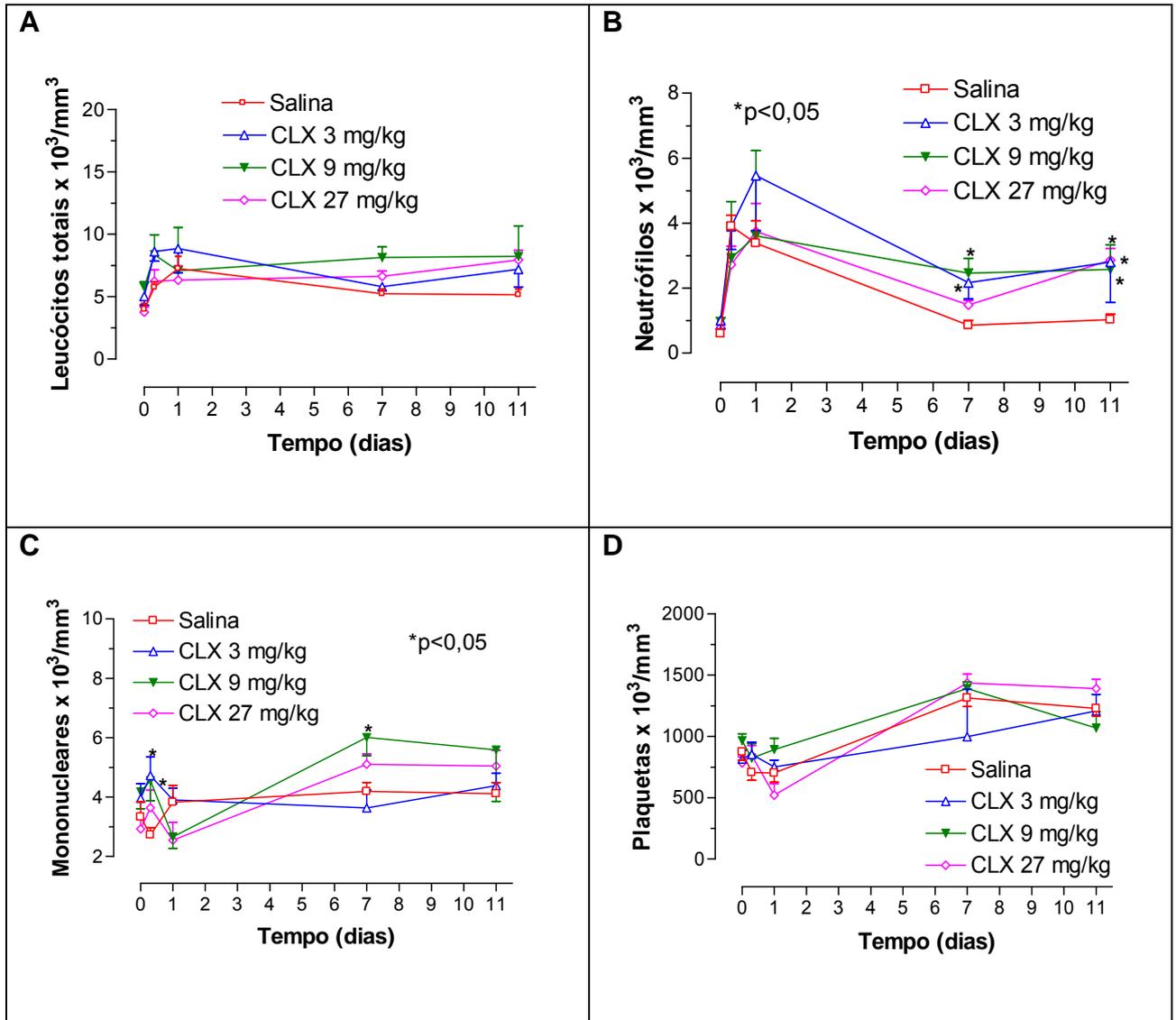
A fotografia **B** mostra a hemiarcada na qual o fio de náilon foi introduzido em torno do segundo molar e cujo animal recebeu apenas solução salina. Nesta fotografia nota-se que o corpo estranho foi capaz de induzir a PE, levando ao aparecimento de reabsorção óssea alveolar e perda de contato interproximal dos dentes (sinais clínicos da doença periodontal humana).

A fotografia **C** mostra o efeito do tratamento com CLX na dose de 27 mg/kg; s.c., administrada 1 hora antes da cirurgia e diariamente após a mesma, durante 11 dias. Observou-se que o CLX foi eficaz em reduzir a perda óssea em 75,4% de forma estatisticamente significante, em relação ao grupo salina ( $P < 0,05$ ).

#### 5.1.2 Efeito do CLX sobre as alterações sistêmicas dos ratos submetidos à periodontite induzida por corpo estranho

##### A – Efeito do CLX sobre o leucograma

A figura 4 mostra que o tratamento com CLX, nas doses de 3, 9 e 27 mg/kg; s.c., apesar de discreta alteração no número de neutrófilos, CLX não alterou as contagens do número de leucócitos totais, de células mononucleares e de plaquetas, de forma significativa, no sangue periférico dos animais.



**Figura 4: Efeito do Celecoxibe sobre o leucograma e plaquetas dos ratos submetidos à periodontite experimental (PE).**

CLX (3, 9 e 27 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados diariamente e 1 hora antes da indução da PE através da inserção cirúrgica do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos. O sangue foi colhido do plexo orbital dos animais imediatamente antes da cirurgia, 6 e 24 horas após, e nos 7<sup>o</sup> e 11<sup>o</sup> dias pós- cirúrgicos. No 11<sup>o</sup> os animais foram sacrificados. Os pontos representam Médias $\pm$ EPM do número total de leucócitos (A), neutrófilos (B), células mononucleares (C) e contagem de plaquetas (D). \*P<0,05 indica diferenças estatísticas dos animais que receberam apenas salina. (ANOVA, Bonferroni).

B - Efeito do CLX sobre a variação de massa corpórea

A figura 5 mostra que o tratamento com CLX, nas doses de 3, 9 e 27 mg/kg não reverteu de forma significativa ( $P < 0,05$ ) a perda de massa corpórea induzida pela periodontite experimental (PE), quando comparada à variação de massa corpórea de animais sem a PE, ou seja, normais. Porém, não ocasionou nenhuma diferença quando comparado ao grupo não tratado (salina).

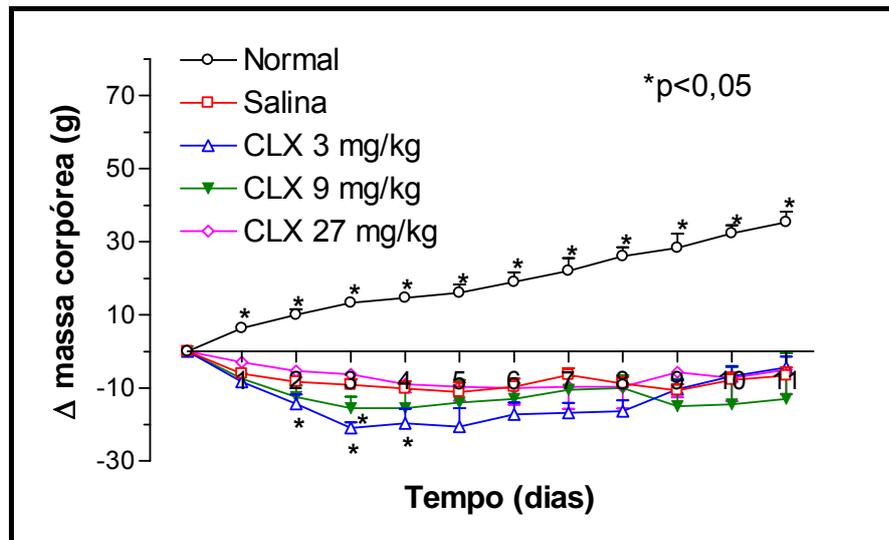


Figura 5: Efeito do CLX sobre a variação de massa corpórea de ratos submetidos à periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho.

A PE, induzida pela inserção de fio de náilon em torno dos segundos molares dos ratos, causou perda de massa corpórea, a qual não foi revertida de forma significativa pelo uso do CLX (3, 9 e 27 mg/kg; s.c.). As massas corpóreas dos animais foram medidas imediatamente antes da cirurgia e, após esta, diariamente, durante 11 dias. Os pontos representam Média $\pm$ EPM da variação de massa corpórea (g), calculada através das diferenças das massas dos animais em relação à massa inicial. \* $P < 0,05$  representa diferenças estatísticas entre os animais com PE tratados com CLX ou salina em relação aos animais normais. O número de animais em cada grupo foi, no mínimo, seis (ANOVA, Bonferroni).

C – Efeito do CLX sobre a análise macroscópica dos estômagos

A tabela 1 mostra que o tratamento com CLX, nas doses de 3, 9 e 27 mg/kg não promoveu lesões gástricas de forma significativa ( $P < 0,05$ ). Os dados representam a mediana e a variação dos escores analisados de acordo com os critérios de Szabo et al. (1985).

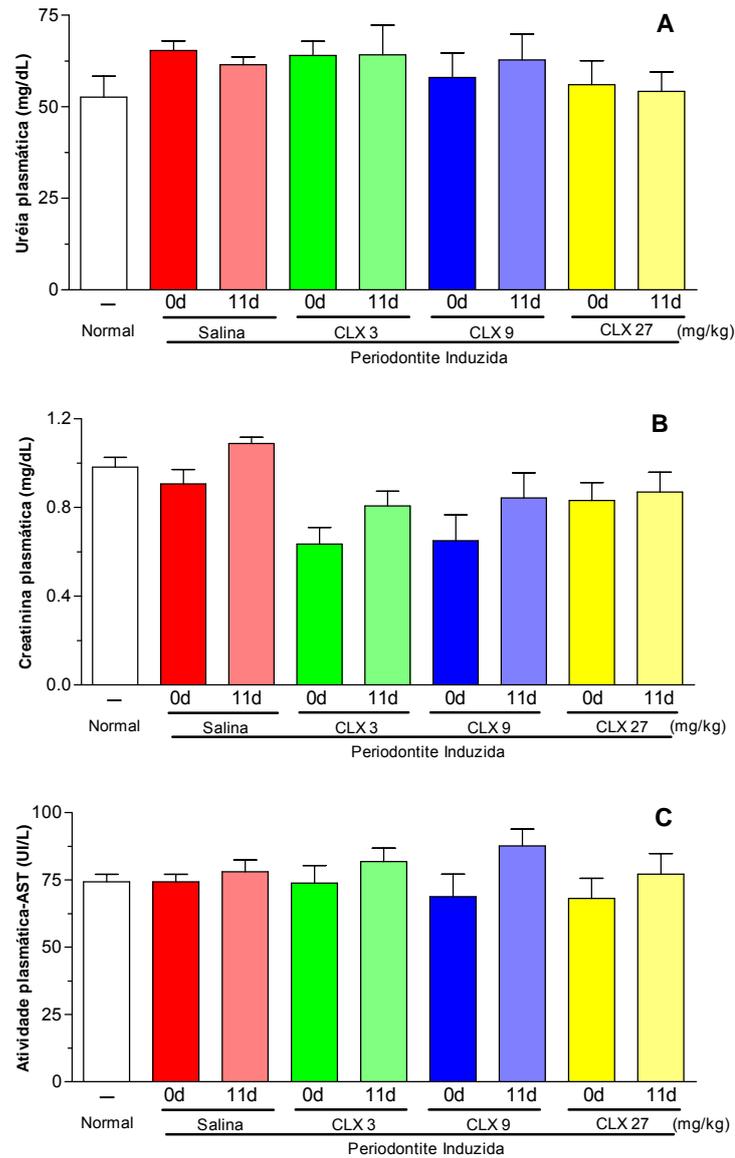
**Tabela 1 - Efeito do CLX sobre a análise macroscópica dos estômagos de ratos submetidos a periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho.** O número de animais em cada grupo foi, no mínimo, seis (ANOVA, Bonferroni).

Grupo	Salina	CLX 3 mg/kg	CLX 9 mg/kg	CLX 27 mg/kg
Escores	1 (0-2)	2 (0-3)	2 (0-4)	2 (0-4)

CLX (3, 9 e 27 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados diariamente e 1 hora antes da indução da PE através da inserção cirúrgica do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos. No 11º dia do procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados e sacrificados, os estômagos foram abertos ao longo da grande curvatura, lavados com solução salina e inspecionados para as atribuições de escores de acordo com os critérios de Szabo et al., onde foram consideradas perdas de pregas da mucosa, descoloração, edema, presença de hemorragia, número de petéquias e intensidade de ulcerações (SZABO et al., 1985). \* $P < 0,05$  representa diferenças estatísticas entre os animais com PE tratados com CLX ou salina em relação aos animais normais.

D – Efeito do CLX sobre as dosagens bioquímicas

O tratamento com CLX, nas doses de 3, 9 e 27 mg/kg, não causou alterações significativas nas funções renal ou hepáticas determinadas pelas dosagens séricas de uréia e creatinina ou pela atividade da aspartato aminotransferase (AST), respectivamente (figura 6).



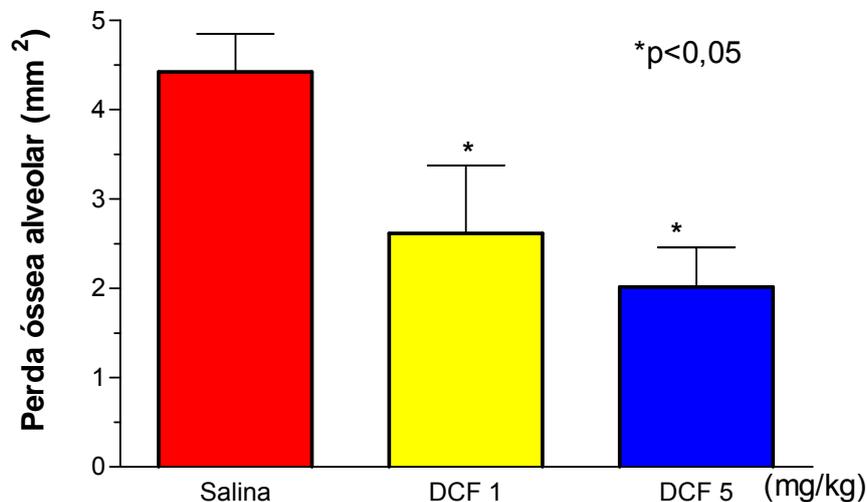
**Figura 6 - Efeito do CLX sobre as dosagens séricas de Uréia (A), Creatinina (B) e na atividade plasmática da Aspartato aminotransferase-AST (C) dos ratos submetidos a periodontite experimental (PE).**

CLX (3, 9 e 27 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados 1 h antes da indução da PE e diariamente durante 11 dias. O sangue foi colhido do plexo orbital dos animais imediatamente antes da cirurgia (0d) e no 11º dia pós-cirúrgico (11d). O número de animais utilizados foi seis. (ANOVA, Bonferroni).

## 5.2 Tratamento com Diclofenaco Potássico (DCF)

### 5.2.1 Efeito do DCF sobre o tecido ósseo alveolar dos ratos submetidos à periodontite induzida por corpo estranho - Análise morfométrica

A figura 7 mostra o efeito do tratamento com diclofenaco potássico nas doses de 1 e 5 mg/kg e salina a 0,9%, administradas por via subcutânea, 1 hora antes da colocação do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores dos ratos e, após esta, diariamente até o 11º dia do procedimento cirúrgico.



**Figura 7: Efeito do diclofenaco potássico (DCF) na perda óssea alveolar na periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho em ratos. As barras representam Médias±EPM de, 6 ratos com PE. \*P<0,05 indica diferenças estatísticas dos animais que receberam apenas salina (ANOVA, Bonferroni).**

Observou-se que o diclofenaco potássico foi capaz de inibir, de forma significativa ( $P<0,05$ ) e dose-dependente, a perda óssea alveolar, representando redução na reabsorção óssea na face vestibular das maxilas em 41% e 54,5%, respectivamente.

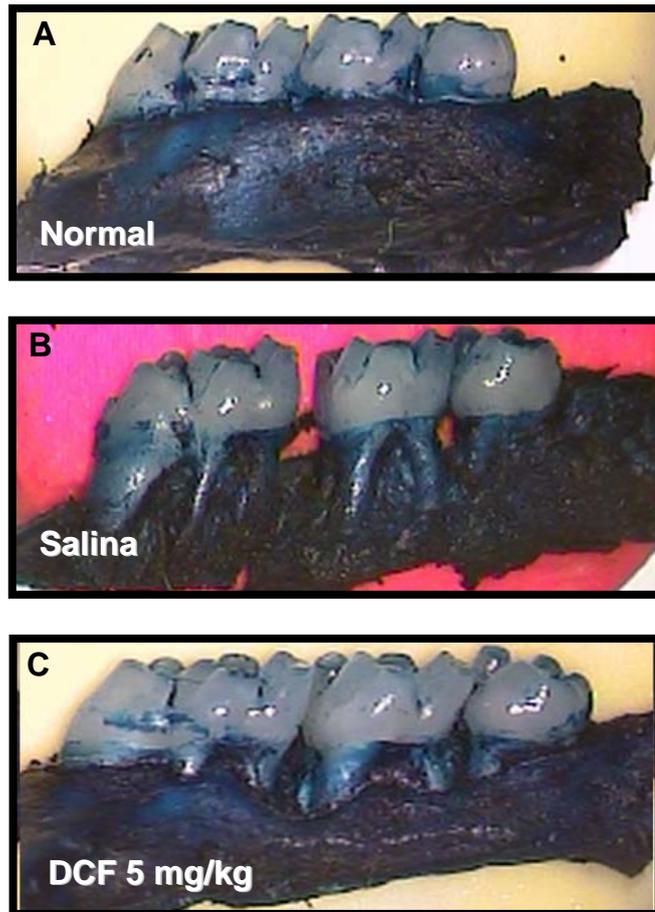
Na figura 8 observa-se o aspecto macroscópico das hemiarcadas de ratos submetido a PE.

A fotografia A mostra a hemiarcada contralateral, utilizada como controle, cujo periodonto apresenta-se íntegro.

A fotografia B mostra a hemiarcada na qual o fio de náilon foi introduzido em torno do segundo molar e cujo animal recebeu apenas solução salina. Nesta fotografia nota-se que o corpo estranho foi capaz de induzir a PE, levando ao

aparecimento de reabsorção óssea alveolar e perda de contato interproximal dos dentes (sinais clínicos da doença periodontal humana).

A fotografia C mostra o efeito do tratamento com DCF na dose de 5 mg/kg; s.c., administrada 1 hora antes da cirurgia e diariamente após a mesma, durante 11 dias. Observou-se que o DCF foi eficaz em reduzir a perda óssea em 54,5% de forma estatisticamente significativa, em relação ao grupo salina ( $P < 0,05$ ).



**Figura 8 - Aspecto macroscópico de periodontos de ratos normais (A), de animais submetidos à periodontite experimental tratados com salina (B), com DCF (C).**

Os animais foram submetidos à indução da PE introduzindo-se o fio de náilon em torno do segundo molar; foram sacrificados no 11º dia após o procedimento cirúrgico; suas maxilas removidas, fixadas em formol a 10%, coradas com azul de metileno a 1% e fotografadas. As áreas de reabsorção óssea foram medidas considerando a junção cimento-esmalte e o osso alveolar remanescente.

### 5.2.2 Efeito do DCF sobre as alterações sistêmicas dos ratos submetidos à periodontite induzida por corpo estranho

#### A – Efeito do DCF sobre o leucograma

A figura 9 mostra que o tratamento com DCF, nas doses de 1 e 5 mg/kg; s.c., causou alterações significativas na contagem do número total de leucócitos, à custa de neutrófilos, com pico maior entre o 7º e 11º dia após o procedimento cirúrgico. Quanto ao número de plaquetas, não ocorreram alterações significativas no sangue periférico dos animais.

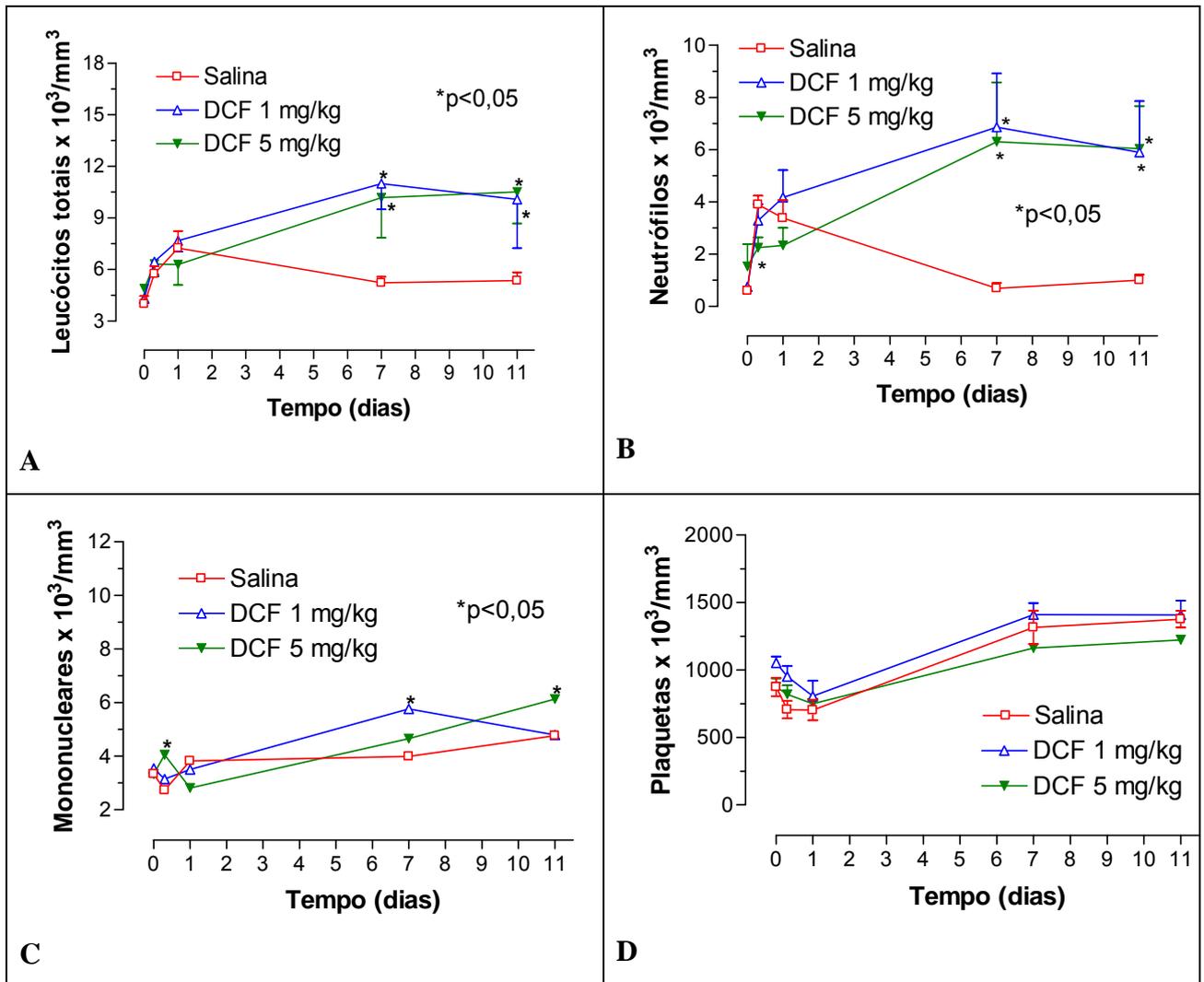
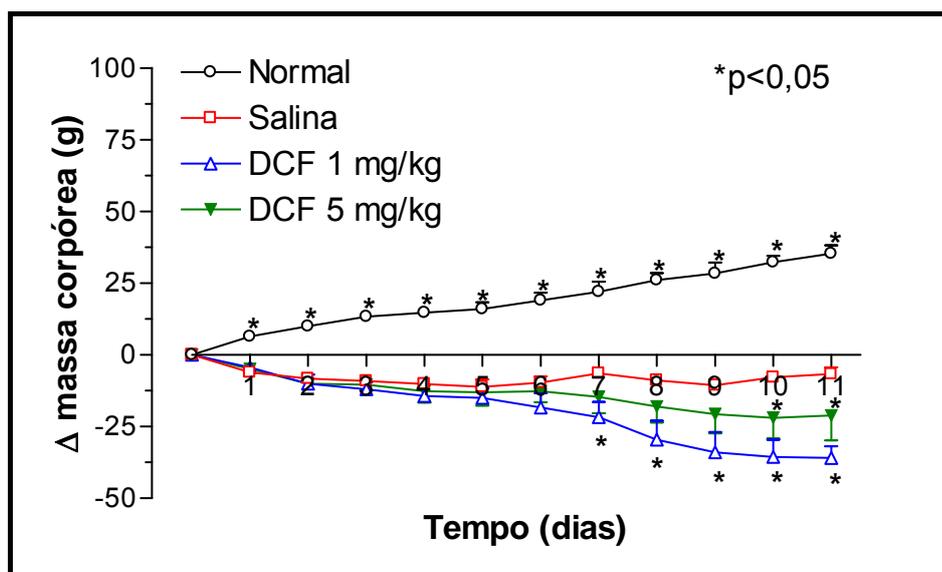


Figura 9 - Efeito do DCF sobre o leucograma e plaquetas dos ratos submetidos a periodontite experimental (PE).

DCF (1 e 5 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados diariamente e 1 hora antes da indução da PE através da inserção cirúrgica do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos. O sangue foi colhido do plexo orbital dos animais imediatamente antes da cirurgia, 6 e 24 horas após, e nos 7º e 11º dias pós- cirúrgicos. No 11º os animais foram sacrificados. Os pontos representam Médias±EPM do número total de leucócitos (A), neutrófilos (B), células mononucleares (C) e contagem de plaquetas (D). \*P<0,05 indica diferenças estatísticas dos animais que receberam apenas salina. O número de animais utilizados foi seis (ANOVA, Bonferroni).

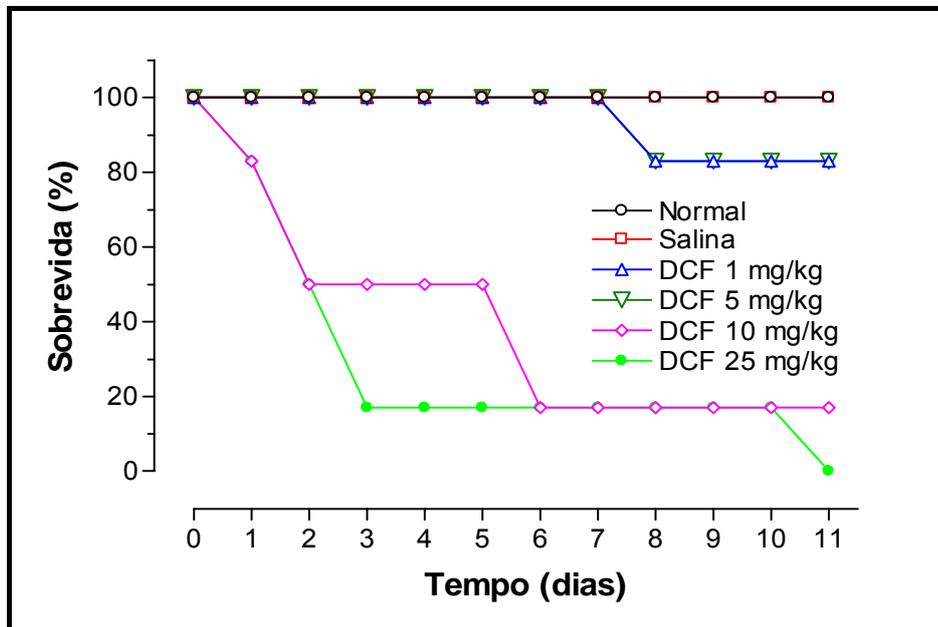
**B – Efeito do DCF sobre a variação de massa corpórea**

A figura 10 mostra que o tratamento com DCF além de não reverter a perda de massa corpórea induzida pela PE, quando comparada à variação de massa corpórea de animais normais, e na dose de 1 mg/kg levou à perda significativa de peso a partir do 7º dia. Entretanto, animais que receberam DCF nas maiores doses, de 10 e 25 mg/kg durante o período experimental iniciaram óbito a partir do primeiro dia, com 20% de mortalidade dos animais em ambos os grupos e chegando a 100% de óbito no 11º, na dose de 25 mg/kg (Figura 11).



**Figura 10 - Efeito do DCF sobre a variação de massa corpórea de ratos submetidos a periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho.**

A PE, induzida pela inserção de fio de náilon em torno dos segundos molares dos ratos, causou perda de massa corpórea, a qual foi acentuada de forma significativa pelo uso do DCF (1 e 5 mg/kg; s.c.) a partir do 7º dia. As massas corpóreas dos animais foram medidas imediatamente antes da cirurgia e, após esta, diariamente, durante 11 dias. Os pontos representam Média±EPM da variação de massa corpórea (g), calculada através das diferenças das massas dos animais em relação à massa inicial. \*P<0,05 representa diferenças estatísticas entre os animais com PE tratados com DCF ou salina em relação aos animais normais. O número de animais em cada grupo foi, no mínimo, seis (ANOVA, Bonferroni).



**Figura 11 - Sobrevivência dos animais tratados com diclofenaco (DCF) na periodontite experimental induzida por corpo estranho.**

Os animais foram submetidos à periodontite induzida por corpo estranho e tratados s.c. com DCF (1, 5, 10 ou 25 mg/kg) durante 11 dias. Foi observado o número de animais mortos durante o período experimental. Todas as mortalidades encontradas foram consideradas significativas (\*P<0,05) quando comparadas às dos grupos controles Normal ou Salina (Kaplan-Meier).

C – Efeito do DCF sobre a análise macroscópica dos estômagos

A tabela 2 mostra que o tratamento com DCF, nas doses de 1 e 5 mg/kg não promoveu lesões gástricas de forma significativa ( $P < 0,05$ ). Os dados representam mediana e variação do número e tamanho de úlceras gástricas, analisadas de acordo com os critérios de Szabo et al. (1985).

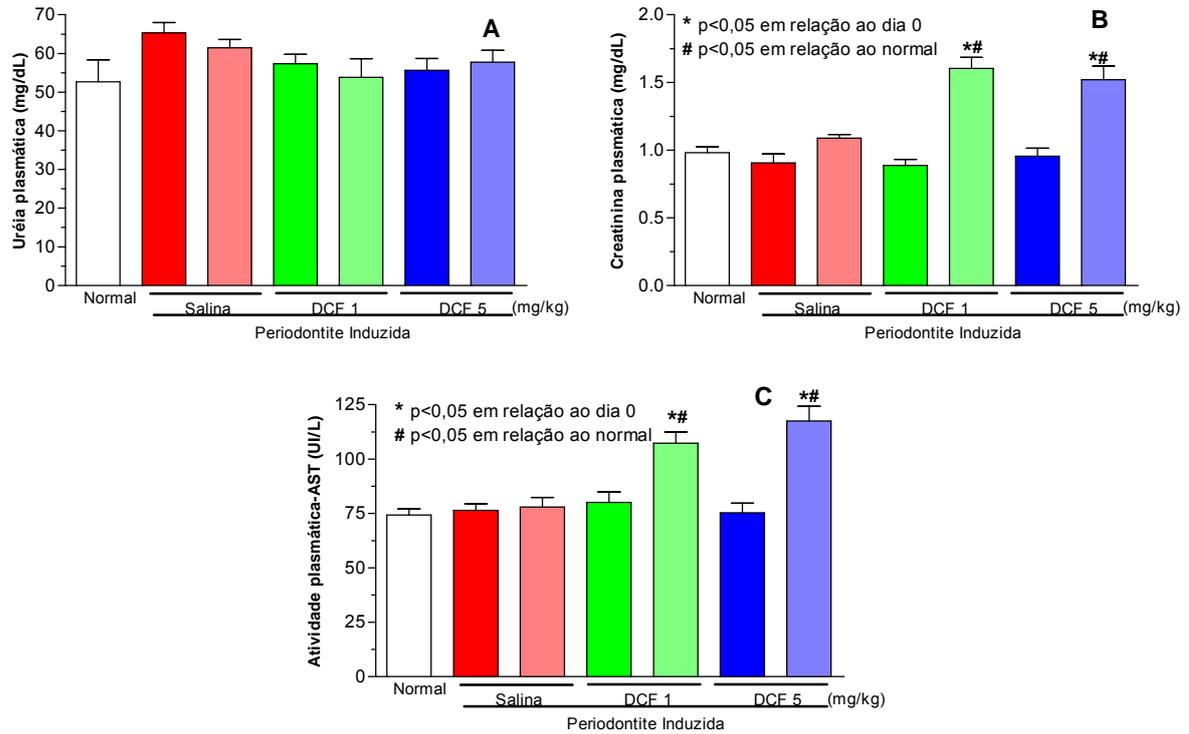
**Tabela 2 - Efeito do DCF sobre a análise macroscópica dos estômagos de ratos submetidos a periodontite experimental (PE) induzida por corpo estranho. O número de animais em cada grupo foi, no mínimo, seis (ANOVA, Bonferroni).**

Grupo	Salina	DCF 1 mg/kg	DCF 5 mg/kg
Escores	1 (0-1)	3 (3-5) *	3 (1-5) *

DCF (1 e 5 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados diariamente e 1 hora antes da indução da PE através da inserção cirúrgica do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos. No 11º dia do procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados e sacrificados, os estômagos foram abertos ao longo da grande curvatura, lavados com solução salina e inspecionados para as atribuições de escores de acordo com os critérios de Szabo et al. (1985), onde foram consideradas perdas de pregas da mucosa, descoloração, edema, presença de hemorragia, número de petéquias e intensidade de ulcerações. \* $P < 0,05$  representa diferenças estatísticas entre os animais com PE tratados com DCF ou salina em relação aos animais normais.

D – Efeito do DCF sobre as dosagens bioquímicas

A figura 12 mostra que o tratamento com DCF nas doses de 1 e 5 mg/kg; s.c. não causou alterações nas dosagens séricas de uréia, entretanto, causou alterações significantes nas dosagens séricas de creatinina e na atividade da aspartato aminotransferase-AST, quando comparadas com seus respectivos valores basais (0d; \* $P < 0,05$ ) ou aos valores do grupo controle (Normal; # $P < 0,05$ ).



**Figura 12 - Efeito do DCF sobre as dosagens séricas de Uréia (A), Creatinina (B) e na atividade plasmática da Aspartato aminotransferase-AST (C) dos ratos submetidos a periodontite experimental (PE).**

DCF (1 e 5 mg/kg; s.c.) e salina (0,9%; s.c.) foram injetados 1 h antes da indução da PE e diariamente durante 11 dias. O sangue foi colhido do plexo orbital dos animais imediatamente antes da cirurgia (0d) e no 11º dia pós-cirúrgico (11d). O número de animais utilizados foi seis. (ANOVA, Bonferroni).

## 6 DISCUSSÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica iniciada e perpetuada por um pequeno grupo de bactérias Gram-negativas, predominantemente anaeróbias, que colonizam a área subgengival (HOLZHAUSEN et al., 2005). Em indivíduos susceptíveis ao desenvolvimento da periodontite, as bactérias se propagam no sulco gengival e subseqüentemente determinam a formação de bolsas, permitindo o fácil acesso das bactérias aos vasos sangüíneos. A incidência e magnitude desses casos de bacteremia são proporcionais ao grau de infecção e inflamação presentes (RUTKAUSKAS, 2005).

Um dos mecanismos pelos quais as bactérias periodontopatogênicas iniciam a doença é ativando o sistema de defesa do hospedeiro, que, na tentativa de controlar a doença, causa a destruição de estruturas periodontais. Uma das maneiras de controlar essa destruição seria modular a resposta inflamatória. Os mediadores químicos da inflamação, como as  $PGE_2$ , estão intimamente ligados às reabsorções ósseas e à perda de tecido (PINHO et al., 2004). Dados na literatura mostram que os osteoclastos, células mais diretamente relacionadas à reabsorção óssea, podem ser diretamente ativados por prostaglandina, principalmente as da série E (BEZERRA et al., 2000). Sob influência de citocinas, os osteoblastos liberam  $PGE_2$ , a qual, por ação parácrina, pode ativar os osteoclastos (ASSUMA et al., 1998).

Offenbacher e colaboradores demonstraram associação da progressão da doença com a produção de prostanóides (prostaglandinas, tromboxano, prostaciclina), que são produtos do metabolismo do ácido araquidônico (OFFENBACHER; HEASMAN; COLLINS, 1993). Outros estudos mostraram um aumento significativo nos níveis de  $PGE_2$  no fluido gengival, bem como na expressão da isoforma COX-2 durante a periodontite experimental em relação ao grupo sem doença, confirmando que quanto mais alto o nível de prostaglandinas no fluido maior é a atividade da doença (LOHINAL et al., 2001; PINHO et al., 2004). Sendo assim, o bloqueio da liberação dessas enzimas pode controlar a perda óssea (PINHO et al., 2004). Desse modo, a utilização de antiinflamatórios no tratamento das doenças periodontais está relacionada principalmente com o controle das  $PGE_2$ , produtos da metabolização do ácido araquidônico pelas enzimas ciclooxigenases (PAQUETTE; WILLIAMS, 2000; PINHO et al., 2004).

No presente estudo, utilizou-se um modelo de periodontite induzida por corpo estranho em ratos descrito na literatura, com o intuito de avaliar a capacidade do celecoxibe, um inibidor seletivo da COX-2, e do diclofenaco potássico, um AINE convencional, em alterar a perda óssea alveolar inflamatória e as alterações sistêmicas nesses animais. Observamos que a inserção cirúrgica do fio de náilon em torno dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos induziu a perda óssea alveolar de forma significativa aos 11 dias. Esses achados estão de acordo com os encontrados por outros autores (LIMA et al., 2000, 2004), os quais mostraram intensa perda óssea alveolar a partir do 3º dia e pico de lesões entre o 7º e 11º dia experimental. Semelhantemente a esses autores, o animal escolhido foi o rato, visto que essa espécie tem-se mostrado adequada para o estudo da periodontite experimental (CRAWFORD; TAUBMAN; SMITH, 1978; SALLAY et al., 1982 SAMEJIMA et al., 1990). Apesar do aparente consenso de que a periodontite pode ser induzida em qualquer região molar (KLAUSEN, 1991), as induções dessas lesões foram realizadas em maxilas, as quais são mais susceptíveis às alterações periodontais que as mandíbulas, cuja constituição óssea é mais compacta (LINDHE; KARRING, 1992).

Nesse estudo, o celecoxibe nas doses diárias de 3, 9 e 27 mg/kg foi capaz de inibir a perda óssea alveolar de forma significativa e dose-dependente. Com a menor dose, a redução da perda óssea alveolar foi de 64% quando comparada aos animais não tratados (Salina). Esse resultado nos pareceu interessante, uma vez que obtivemos um efeito terapêutico satisfatório, mesmo em dose baixa.

Considerando relatos na literatura da importante capacidade do celecoxibe apresentar perda de sua atividade antiinflamatória quando utilizado em dosagens elevadas em tratamentos de algumas condições sistêmicas (NIEDERBERGER et al., 2001), fomos verificar se era este o caso observado com a dose intermediária (9 mg/kg) utilizada nesse estudo, visto que os animais apresentaram um aspecto interessante de prevenção de perda óssea, mas não superior ao grupo anterior. Assim, avaliamos a administração do celecoxibe em uma dosagem maior (27 mg/kg). Tal dosagem estaria de acordo com protocolos utilizados por outros autores, os quais relatam atividade antiinflamatória do celecoxibe quando utilizado até 30 mg/kg por uma semana em ratos com mucosite intestinal induzida

por antineoplásico (LIMA, 2004). Verificamos que o uso de 27 mg/kg de celecoxibe durante 11 dias demonstrou excelente resultado, reduzindo a perda óssea alveolar em 75,4%, quando comparada aos animais não tratados. Dessa forma, justificamos que a dose intermediária não correspondeu em percentual proporcionalmente ao aumento das doses, possivelmente devido ao baixo número de animais utilizados. Isso, contudo, não deve comprometer os dados obtidos, pois os mesmos, em conjunto, demonstram claramente a atividade protetora desse antiinflamatório.

O resultado com diclofenaco nas doses de 1 e 5 mg/kg também reduziu de forma significativa, a perda óssea alveolar. Isso já era esperado, visto que o mecanismo de ação desse fármaco, o qual já foi vastamente abordado por diversos autores, está relacionado com a inibição da biossíntese de prostaglandinas (PATRIGNANI et al., 2004), um dos fatores responsáveis pela reabsorção alveolar.

Esses achados estão de acordo com dados encontrados na literatura, no qual, alguns autores utilizaram meloxicam (um inibidor preferencial da COX-2) e indometacina (um clássico e potente AINE não-seletivo) durante sete dias em modelo animal semelhante e observaram que ambos antiinflamatórios foram eficazes em reduzir os parâmetros inflamatórios e a perda óssea alveolar (BEZERRA et al., 2000). Nossos dados sugerem, portanto, que a menor perda óssea alveolar observada deveu-se à inibição das ciclooxigenases promovida tanto por celecoxibe, como também, por diclofenaco.

Tem sido relatado que o uso de AINEs convencionais está associado a alterações na integridade da mucosa gástrica. Alguns desses exercem maior ou menor irritação direta na mucosa gástrica (WALLACE; SOLDATO, 2003). Tem sido atribuído à inibição de COX-2 como a responsável pelos efeitos terapêuticos dos AINEs, enquanto que a inibição de COX-1 resultaria nos efeitos colaterais, particularmente aqueles no TGI. De fato, COX-1 é a isoforma mais expressa nas plaquetas e mucosa gástrica de humanos saudáveis (PATRIGNANI et al., 2004), e assim, os AINEs seletivos para a COX-2 poderiam ser a primeira escolha, pois apresentam os mesmos efeitos antiinflamatórios comparados aos AINEs não-seletivos, especialmente por não agredirem a mucosa gástrica (BEZERRA et al., 2000). Considerando a importância desses aspectos, realizamos a análise macroscópica dos estômagos dos ratos submetidos à periodontite experimental. Nessa análise verificou-se que o celecoxibe não promoveu lesões gástricas de forma significativa. E, de forma interessante, o mesmo ocorreu com o diclofenaco, visto que

foram detectadas perda de pregas e algumas petéquias, as quais não foram estatisticamente relevantes. Isso poderia ser inesperado, dado aos relatos de que a toxicidade na mucosa do TGI levando a ulcerações, sangramentos, perfurações e obstruções são decorrentes da inibição da atividade de COX-1 nas plaquetas, que aumenta a tendência de sangramento e, na mucosa gástrica, onde os prostanóides são importantes na proteção, de erosão e ulceração, dessa mucosa (PATRIGNANI et al., 2004) conforme dito anteriormente.

Em um estudo comparando o celecoxibe com o diclofenaco no tratamento crônico da artrite reumatóide, foram observadas mais úlceras gastrintestinais detectadas por endoscopia em pacientes que receberam diclofenaco do que naqueles que receberam celecoxibe. O mesmo se confirmou quando analisados em separado pelo local da ulceração, portanto, mais úlceras e/ou erosões nas mucosas foram detectadas no estômago dos pacientes tratados com diclofenaco que nos locais correspondentes daqueles tratados com celecoxibe. Eventos adversos no TGI e dores abdominais foram significativamente mais baixas no grupo do celecoxibe que no grupo do diclofenaco. Por fim, a taxa de retirada dos pacientes do estudo por causa de um evento adverso foi significativamente mais precoce para diclofenaco que para celecoxibe. Após o estudo, os resultados sugeriram que uma inibição seletiva da COX-2 já é suficiente para atingir eficácia antiinflamatória e analgésica plena em pacientes com artrite reumatóide, uma vez que a eficácia do celecoxibe e diclofenaco foi praticamente a mesma; e que a taxa de ulcerações com celecoxibe é mais baixa que em tratamentos com AINEs convencionais, ou seja, a tolerância gastrintestinal é melhor com celecoxibe que com diclofenaco (EMERY et al., 1999).

Retomando nossos resultados, a semelhança entre celecoxibe e diclofenaco em não causar alterações importantes nas mucosas gástricas dos ratos submetidos à periodontite experimental, quando comparados aos animais não tratados, possivelmente se deveu às dosagens não elevadas da segunda, uma vez que nenhum grupo apresentou lesões típicas de gastrite. Assim, isso pode ser extremamente importante, pois podemos estar diante de fármacos cujas atividades antiinflamatórias podem ser observadas com uso de doses relativamente baixas, e assim, sem causar alterações sistêmicas significantes.

Nesse contexto, para corroborar tais impressões, pareceu-nos interessante avaliar outros aspectos sistêmicos que podem estar envolvidos quando do uso sistêmico prolongado tanto dos AINEs convencionais, como os seletivos para a COX-2 e que, muitas vezes, passam despercebidos clinicamente. Informações adicionais sugerem que a infecção periodontal desencadeia uma resposta de fase discretamente aguda, que modifica a química sanguínea. As respostas de fase aguda representam uma resposta inicial e altamente complexa do organismo a diversas agressões, tais como infecções bacterianas, viróticas ou parasitárias, traumatismo mecânico ou térmico, necrose isquêmica e multiplicação maligna (EBERSOLE; CAPELLI, 2005).

Avaliamos, então, o leucograma dos animais submetidos à periodontite induzida por corpo estranho, bem como, do grupo de animais tratados com celecoxibe ou diclofenaco. No grupo controle (Salina), verificou-se que os números de leucócitos começaram a aumentar a partir da 6ª hora, atingindo um pico na 24ª hora. Tem sido demonstrado em modelo de periodontite em ratos que alterações tanto no número de leucócitos totais como na contagem diferencial dos leucócitos do sangue periférico desses animais podem ser observadas (SAMEJIMA *et al.*, 1990). Outros estudos demonstraram um pico de leucocitose na 6ª hora, à custa do aumento no número de neutrófilos, seguida por uma tendência ao retorno dos níveis normais na 24ª hora. Em nosso estudo, no 7º dia observou-se uma tendência à normalidade, mantendo-se constante até o 11º dia. Esses achados foram diferentes aos relatados por outros autores, os quais mostraram que no período compreendido entre o 7º e o 11º dia, observou-se nova leucocitose com predomínio de mononucleares (SALLAY *et al.*, 1982; LIMA, 1999).

O uso do celecoxibe nesse estudo não causou alterações, de forma significativa, no hemograma dos animais submetidos à periodontite. Mesmo apresentando uma discreta alteração no número de neutrófilos, esta não foi suficiente para alterar a contagem do número de leucócitos totais. Quanto ao efeito do tratamento dos animais com diclofenaco, verificou-se uma leucocitose em decorrência do aumento do número de neutrófilos, com maior pico no período compreendido entre o 7º e 11º dia após o procedimento cirúrgico. De acordo com a literatura, o diclofenaco além de reduzir a inflamação e a dor reumática pela

inibição das prostaglandinas, afeta, também, a função dos leucócitos polimorfonucleares reduzindo a quimiotaxia e a produção de protease neutra bem como a expressão de L-selectina, E-selectina, ICAM-1 e moléculas de adesão VCAM-1 (MARTINEZ et al., 2005).

Um achado interessante em nosso trabalho correspondeu a não alteração do número de plaquetas do sangue dos animais submetidos à periodontite, inclusive nos animais que receberam celecoxibe ou diclofenaco. Esse aspecto pode sugerir que as doses utilizadas foram relativamente seguras sob o ponto de vista cardiovascular ou ainda, possivelmente, tais alterações não foram vistas por não se tratar de um estudo em longo prazo. Demos especial atenção a esse aspecto, uma vez que pesquisas recentes têm estabelecido que a infecção periodontal seja um provável fator de risco para a moléstia cardiovascular (MITCHELL; EVANS, 1998; EBERSOLE; CAPELLI, 2005), incluindo aterosclerose, infarto do miocárdio, apoplexia e, também, contribui para o desenlace adverso da gravidez, do diabetes e de outras enfermidades (WILLIAMS; OFFENBACHER, 2005). Sabe-se, contudo, que muitas das alterações cardiovasculares estão relacionadas às alterações plaquetárias induzidas por AINEs. Enquanto que AINEs convencionais determinam inibição da formação de  $TXA_2$  e, por conseguinte, reduz a agregação plaquetária excessiva, os AINEs seletivos da COX-2 não promovem tais inibições, restringindo-se apenas à redução dos níveis de prostaciclina. Assim, os riscos de tromboembolismo podem aumentar (CICCONETTI et al., 2004).

Adicionalmente, outro aspecto avaliado foi a variação de massa corpórea. Na periodontite experimental induzida por corpo estranho em ratos observou-se perda significativa de massa corpórea a partir dos primeiros dias após a cirurgia, possivelmente decorrente do trauma cirúrgico e prosseguindo até o final do período experimental, sem, contudo, alcançarem o nível de massa corpórea dos animais normais, ou seja, dos ratos não submetidos à indução da periodontite. Essa perda de massa corpórea induzida pela periodontite experimental está de acordo com outros autores, os quais observaram intensa perda de massa corporal a partir do segundo dia cirúrgico, sem, também, alcançarem o nível de massa corpórea dos animais normais nos dias subseqüentes (LIMA et al., 2000).

Em nosso estudo, tanto o celecoxibe como o diclofenaco não foram capazes de reverter de forma significativa a perda de massa corpórea. Isso parece

ser devido às possíveis dosagens, as quais foram aqui consideradas relativamente baixas e, por isso, não analgésicas o suficiente, uma vez que estudos clínicos demonstraram que inibidores seletivos da COX-2 têm eficácia analgésica similar àquela dos AINEs tradicionais no tratamento da dor aguda no pós-operatório oral (CICCONETTI et al., 2004) ou no tratamento crônico da artrite reumatóide (EMERY et al., 1999). Em contrapartida, observou-se que as maiores doses de diclofenaco (10 e 25 mg/kg) causaram redução significativa da taxa de sobrevivência dos animais a partir do primeiro dia pós-operatório e atingindo 50% dos animais no terceiro dia. Esse achado deve ser relevante, visto que até o presente momento apenas consideramos como doses efetivas aquelas que não levaram os animais a óbito, não obstante sua relevante redução de perda óssea alveolar. Dessa forma, pareceu-nos interessante avaliarmos as funções renais e hepáticas dos animais, onde os AINEs têm sido responsabilizados por causar importantes alterações quando de seu uso crônico.

Existe uma evidência inequívoca de que ambas as isoformas COX-1 e COX-2 estão presentes nos rins em suas formas constitutivas e induzidas (BRATER, 2002). As prostaglandinas influem na excreção de sal e água alterando o fluxo sanguíneo renal e atuando diretamente sobre os túbulos renais (CHENG; HARRIS, 2004). Dentre as várias prostaglandinas, sabe-se que as mais importantes são as PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub> na manutenção da homeostasia renal (BRATER, 2002). Corroborando esses aspectos, em um estudo utilizando cães, as PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub> foram infundidas diretamente na luz das artérias renais e observou-se que houve um aumento significativo do fluxo sanguíneo local e conseqüente diurese, com pequena alteração na taxa de filtração glomerular. Contrabalançando seus efeitos, o TXA<sub>2</sub> age reduzindo o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular, e participa da retroalimentação tubuloglomerular (SMYTH; BURKE; FITZGERALD, 2006).

Nossos resultados mostraram que a indução da periodontite em ratos não causou alterações nas funções renais ou hepáticas avaliadas, aqui, através das dosagens séricas de suas respectivas enzimas, uréia e creatinina ou AST. Observou-se, também, que a administração de celecoxibe não alterou os níveis séricos dessas enzimas. Contudo, o uso de diclofenaco, tanto na dose de 1 mg/kg como também na dose de 5 mg/kg determinou alterações em ambas as funções consideradas. O diclofenaco induziu um aumento significativo nos níveis séricos de creatinina, sem alteração dos níveis de uréia. Embora os níveis séricos de uréia não

tiverem sido alterados, sabe-se que testes utilizando esta enzima como um marcador da função renal não pode ser considerado sensível o suficiente para se estabelecer diagnóstico de alteração renal, enquanto o teste da creatinina mostra-se mais sensível nesse aspecto (MORGAN; CARVER; PAYNE, 1977). A uma primeira vista, consideramos que a inibição das COXs pode ser o fator determinante dessas diferenças, uma vez que a inibição seletiva da COX-2 definida pela administração de celecoxibe causou menos danos aos rins ou fígado quando comparada ao diclofenaco, onde a inibição não específica das COXs seria responsável pelas alterações enzimáticas encontradas aqui. De fato, a associação da produção de prostanóides com a injúria glomerular tem sido apreciada por mais de 20 anos. Vários estudos recentes têm caracterizado caminhos que estão associados com a hidrólise de fosfolipídios e o metabolismo do ácido araquidônico livre em prostanóides. A liberação do ácido araquidônico a partir dos fosfolipídios de membranas plasmáticas por fosfolipase A<sub>2</sub> geralmente é o passo limitante na síntese de prostanóides. O ácido araquidônico livre é metabolizado pelas ciclooxigenases, seguido da síntese de prostaglandinas e tromboxano (CYBULSKY, 2007).

O desenvolvimento dos novos inibidores seletivos para COX-2 tais como celecoxibe e rofecoxib, foi baseado na hipótese de que a eficácia terapêutica desses agentes se devia a inibição seletiva dessa enzima (BRATER, 2002). Em muitos tecidos, a COX-1 é expressa constitutivamente, enquanto a COX-2 é induzida em estados de doenças, mas em certas células do rim, a COX-2 também é expressa constitutivamente. Desse modo, a visão que apenas a COX-1 produz prostanóides necessários para as funções fisiológicas normais, enquanto que a COX-2 seria responsável pela produção de prostanóides com papel patológico não é necessariamente aplicada à fisiologia do rim, pois os efeitos de prostanóides são mediados por uma via de receptores específicos e muitos destes têm sido encontrados em células renais (CYBULSKY, 2007). Assim, poderíamos ainda considerar que as alterações enzimáticas induzidas pelo diclofenaco poderiam ser decorrentes de suas dosagens, relativamente excessivas nesse estudo. Avaliando esse aspecto, estudos conduzidos em voluntários saudáveis e utilizando tanto celecoxibe como naproxeno, um inibidor não seletivo das COXs, mostram que ambos foram capazes de causar reduções transientes na natriurese após primeiro dia de administração desses agentes, seguido por retorno aos níveis basais no dia seguinte até 14 dias de avaliação, possivelmente por um processo natural de

adaptação fisiológica. A importância desses dados é que se deve inferir que as mesmas precauções devem ser tomadas para ambas as medicações concernentes aos riscos de alterações renais (BRATER, 2002). Dessa forma, a alteração da função renal induzida por diclofenaco poderia ter se dado por outro mecanismo que não uma lesão direta por redução de prostaglandinas renais, mas sim, por outro aspecto de grande importância, a de sua capacidade de alterar a função hepática, que, em última instância, estaria comprometendo a função renal pela persistência de metabólitos hidroxilados de diclofenaco. A esse respeito, diclofenaco, sulindac e outros, têm sido encontrados mais comumente associados à hepatotoxicidade (O'CONNOR; DARGAN; JONES, 2003). Vale salientar que esses achados estão, sobretudo, associados ao maior uso desses agentes na prática clínica, o que favorece maior correlação dos efeitos adversos e o seu uso correspondente (BOELSTERLI, 2003), pois os novos inibidores seletivos de COX-2, como celecoxibe, rofecoxib ou nimesulida, também tem sido associados com hepatotoxicidade quando de seus usos prolongados, mas com um adendo importante: o celecoxibe, em particular, tem sido relatado apresentar menos potencial para hepatotoxicidade (MADDREY et al., 2000; O'CONNOR; DARGAN; JONES, 2003).

## 7 CONCLUSÃO

O diclofenaco e o celecoxibe apresentaram efeitos protetores semelhantes na perda óssea, induzida pela periodontite experimental em ratos.

O celecoxibe, utilizado na periodontite induzida durante 11 dias, foi menos tóxico que o diclofenaco, uma vez que este causou maior mortalidade de forma dose-dependente, e alterações ao nível de leucograma e das funções renal e hepática determinadas pelos níveis séricos de creatinina e de atividade da aspartato aminotransferase (AST), respectivamente.

## REFERÊNCIAS

ABDELLAOUI, K. S.; CASTIONI, N. V.; GURNY, R. Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. **Eur. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 83-99, 2000.

ALEXANDER, D. C. C.; MARTIN, J. C.; KING, P. J.; POWEEL, J. R.; CAVES, J.; COHEN, M. E. Interleukin-1 Beta, Prostaglandin E<sub>2</sub>, and Immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. **J. Periodontol.**, v. 67, p. 755-762, 1996.

ASSUMA, R.; OATES, T.; COCHRAN, D.; AMAR, S.; GRAVES, D. T. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. **J. Immunol.**, v. 160, p. 403-409, 1998.

BAB, I. A.; SELA, M. N.; GINSBURG, I.; DISHON, T. Inflammatory lesions and bone resorption induced in the rat periodontium by application of lipoteichoic acid of *Streptococcus mutans*. **Inflammation**, v. 3, p. 345-358, 1979.

BARDEN, J.; EDWARDS, J.; MOORE, R. A.; MCQUAY, H. J. Single dose oral diclofenac for postoperative pain. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 2, 2004.

BECK, J. D.; ARBES JR., S. J. Epidemiologia das doenças gengivais e periodontais. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 5, p.66-83.

BEZERRA, M. M.; LIMA, V.; ALENCAR, V. B. M.; VIEIRA, I. B.; BRITO, G. A. C.; RIBEIRO, R. A.; ROCHA, F. A. R. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 71, p. 1009-1014, 2000.

BOELSTERLI, U. A. Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 192, p. 307-322, 2003.

BRATER, D. C. Renal effects of cyclooxygenase-2-selective inhibitors. **J. Pain Symptom Manage.**, v. 23, n. 4 suppl., p. S15-S20, 2002.

BROOKS, P.; EMERY, P.; EVANS J. F.; FENNER, H.; HAWKEY, C. J.; PATRONO, C.; SMOLEN, J.; BREEDVELD, F.; DAY, R.; DOUGADOS, M.; EHRICH, E. W.;

GIJON-BAÑOS, J.; KVIEN, T. K.; VAN RIJSWIJK, M. H.; WARNER, T.; ZEIDLER, H. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. **Rheumatology**, v. 38, n. 8, p. 779-788, 1999.

CARRANZA, F. A.; BERNARD, G. W. As Estruturas de suporte do dente. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 2, p. 31-50.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T. S.; SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 99, p. 13926-13931, 2002.

CHENG, H. F.; HARRIS, R. C. Cyclooxygenases, the kidney, and hypertension. **Hypertension**, v. 43, p. 525-530, 2004.

CICCONETTI, A.; BARTOLI, A.; RIPARI, F.; RIPARI, A. Cox-2 selective inhibitors: A literature review of analgesic efficacy and safety in oral-maxillofacial surgery. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 97, n. 2, p. 139-146, 2004.

CLEMETT, D.; GOA, K. L. Celecoxibe – review of its use in osteoarthritis, rheumatic arthritis and acute pain. **Drugs**, v. 59, n. 4, p. 957-980, 2000.

CRAWFORD, J. M.; TAUBMAN, M. A.; SMITH, D. J. The natural history of periodontal bone loss in germfree and gnotobiotic rats infected with periodontopathic microorganisms. **J. Periodontol. Res.**, v. 13, p. 316-325, 1978.

CYBULSKY, A. V. Cyclooxygenases, prostanoids, and glomerular injury: Complex relationships. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 18, p. 367-368, 2007.

DOYLE, G.; JAYAWARDENA, S.; ASHRAF, E.; COOPER, S. A. Efficacy and tolerability of non-prescription ibuprofen versus celecoxibe for dental pain. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 42, n. 8, p. 912-919, 2002.

EBERSOLE, J. L.; CAPPELLI, D. Reagentes de fase aguda nas doenças Infeciosas e Inflamatórias. In: WILLIAMS, R. C.; OFFENBACHER, S. **Periodontologia 2000**. São Paulo: Santos, 2005. n. 7, p. 19-49.

EMERY, P.; ZEIDLER, H.; KVIEN, T. K.; GUSLANDI, M.; NAUDIN, R.; STEAD, H.; VERBURG, K. M.; ISAKSON, P. C.; HUBBARD, R. C.; GEIS, G. S. Celecoxibe

versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomized double-blind comparison. **Lancet**, v. 354, p. 2106-2111, 1999.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N. Eng. J. Med.**, v. 345, p. 433-442, 2001.

FLOWER, R. J. Prostaglandins and related compounds. In: VANE, J. R.; FERREIRA, S. H. (Eds.). **Inflammation**. New York: Springer-Verlag, 1978. p. 374-422.

FLOWER, R. J.; PERRETTI, M. Controlling inflammation: a fat chance? **J. Exp. Med.**, v. 201, n. 5, p. 671-674, 2005.

FOEGH, M. L.; RAMWELL, P. W. Os Eicosanóides: prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos & compostos relacionados. In: KATSUNG, B. G. **Farmacologia básica & clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 18, p. 273-285.

FURST, D. E.; MUNSTER, T. Antiinflamatórios não-esteróides, agentes anti-reumáticos modificadores da doença, analgésicos não-opioides & drogas utilizadas na gota. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica & clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 36, p. 518-541.

GENGIVITE. Disponível em: <<http://www.dual.odo.br/>>. Acesso em: 17 jul. 2007.

HAAKE, S. K. Etiologia das doenças periodontais. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Carranza - Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 85.

HAAKE, S. K.; NEWMAN, M. G.; NISENGARD, R. J.; SANZ, M. Microbiologia periodontal. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004a. cap. 6, p. 86-100.

HAAKE, S. K.; NISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G.; MIYASAKI, K. T. Interações Microbianas com o hospedeiro nas doenças periodontais. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004b. cap. 8, p. 118-136.

HARRIS, R. C. Cyclooxygenase-2 inhibition and renal physiology. **Am. J. Cardiol.**, v. 89, n. 6A, p. 10D-17D, 2002.

HERSCHMAN, H. R. Prostaglandin synthase 2. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1299, p. 125-140, 1996.

HERSH, E. V.; LEVIN, L. M.; ADAMSON, D.; CHRISTENSEN, S.; KIERSCH, T. A.; NOVECK, R.; GENE WATSON II; LYON, J. A. Dose – ranking analgesic study of Prosorb diclofenac potassium in post surgical dental pain. **Clin. Ther.**, v. 26, n. 8, p. 1215-1227, 2004.

HOLMSTRUP, P. Anatomia macroscópica do periodonto. In: WILSON, T. G.; KORNMAN, K. S. **Fundamentos de periodontia**. São Paulo: Quintessence, 2001. cap. 3, p. 17-26.

HOLZHAUSEN, M.; SPOLIDORIO, D. M. P.; MUSCARÁ, M. N.; HEBLING, J.; SPOLIDORIO, L. C. Protective effects of etoricoxib, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2, in experimental periodontitis in rats. **J. Periodont. Res.**, v. 40, p. 208-211, 2005.

IJUHN, N. Light and electron microscopic studies of experimentally-induced pathologic changes in the rat periodontal tissue. **Adv. Dent. Res**, v. 2, p. 209-214, 1988.

JEFFCOAT, M. K.; READY, M. S. Progression of probing of attachment loss in adult periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 62, p. 185-189, 1991.

KHAN, A. A.; BRAHIM, J. S.; ROWAN, J.S.; DIONNE, R. A. In vivo selectivity of a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor in the oral surgery model. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 72, n. 1, p. 44-49, 2002.

KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: A review article. **J. Periodontol.**, v. 62, p. 59-73, 1991.

KORNMAN, K. S. A patogenia das doenças periodontais: uma observação a mais. In: WILSON, T. G.; KORNMAN, K. S. **Fundamentos de periodontia**. São Paulo: Quintessence, 2001. cap. 1, p. 3-7.

\_\_\_\_\_. Host modulation as a therapeutic strategy in the treatment of periodontal disease. **Clin. Infect. Dis.**, v. 28, n. 3, p. 520-526, 1999.

\_\_\_\_\_. Refractory periodontitis: critical questions in clinical management, **J. Clin. Periodontol.**, v. 23, n. 3, p. 293-298, 1996.

KUHR, A.; POPA-WAGNER, A.; SCHMOLL, H.; SCHWAHN, C.; KOCHER, T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. **J. Periodont. Res.**, v. 39, p. 101-106, 2004.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos atuais. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 52, n. 4, p. 498-512, 2002.

LAH, T. T.; BABNIK, J.; SCHIFFMANN, E.; TURK, V.; SKALERIC, U. Cysteine proteinases and inhibitors in inflammation: their role in periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 5, p. 485-491, 1993.

LASCALA, N. T. Significado clínico e preventivo da cárie e doenças periodontais na odontologia. In: LASCALA, N. T. **Prevenção na clínica odontológica: promoção de Saúde Bucal**. São Paulo: Artes Médicas, 1997. cap. 3, p. 21-27.

LIMA, V. **Efeito de moduladores da produção de citocinas (clorpromazina, pentoxifilina, talidomida e dexametasona) na doença periodontal experimental induzida por corpo estranho em ratos**. 1999. 150f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

\_\_\_\_\_. **Evidências da participação de TNF- $\alpha$  e COX-2 nas mucosites oral e intestinal induzidas por 5-fluorouracil e metotrexato em animais**. 2004. 197f. Tese (Doutorado) – Curso de Doutorado em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

LIMA, V.; BEZERRA, M. M.; ALENCAR, V. B.M.; VIDAL, F. D. P.; ROCHA, F.A.C.; BRITO, G. A.C.; RIBEIRO, R. A. Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. **J. Oral Sci.**, v. 108, p. 123-129, 2000.

LIMA, V.; VIDAL, F. D. P.; ROCHA, F. A. C.; BRITO, G. A. C.; RIBEIRO, R. A. Effects of TNF- $\alpha$  inhibitors pentoxifylline and thalidomide on alveolar bone loss in short-term experimental periodontal disease in rats. **J. Periodontol.**, v. 75, n. 1, p. 156-162, 2004.

LINDHE, J.; KARRING, T. A Anatomia do Periodonto. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontologia clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. cap.1, p. 1-41.

LIU, C-M; HOU, L-T; WONG, M-Y; ROSSOMANDO, E. F. Relationships between clinical parameters, interleukin 1B and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. **Cytokine**, v. 8, n. 2, p. 161-167, 1996.

LOHINAI, Z.; STACH LE WITZ, R.; SZEKELY, A. D.; FEHER, E.; DEZSI, L.; SZABO, C. Evidence for the expression of cyclooxygenase-2 enzyme in periodontitis. **Life Sci.**, v. 70, p. 279-290, 2001.

MADDREY, W. C.; MAURATH, C. J.; VERBURG, K. M.; GEIS, G. S. The hepatic safety and tolerability of the novel cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxibe. **Am. J. Ther.**, v. 7, n. 3, p. 153-158, 2000.

MADEIRA, M. C.; RIZZOLO, R. J. C. Anatomia do periodonto. In: MADEIRA, M. C. **Anatomia do dente**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2005. cap.1, p. 1-27.

MAJIMA, M.; HAYASHI, I.; MURAMATSU, M.; KATADA, J.; YAMASHINA, S.; KATORI, M. Cyclo-oxygenase-2 enhances basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis through induction of vascular endothelial growth in rat sponge implants. **Br. J. Pharmacol.**, v. 130, p. 641-649, 2000.

MARTINEZ, L. L.; OLIVEIRA, M. A.; MIGUEL, A. S.; RASTELLI, V. M. F.; CRUZ, J. W. M. C.; TOSTES, R. C. A.; CARVALHO, M. H. C. C.; NIGRO, D.; FORTES, Z. B. Losartan Attenuates the Antimigratory Effect of Diclofenac in Spontaneously Hypertensive Rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 46, n. 2, p. 190-199, 2005.

MASFERRER, J. L.; ZWEIFEL, B. S.; MANNING, P. T.; HAUSER, S. D.; LEAHY, K. M.; SMITH, W. G.; ISAKSON, P. C.; SEIBERT, K. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 *in vivo* is antiinflammatory and nonulcerogenic. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 9, n. 8, p. 3228-3232, 1994.

McMURRAY, R. W.; HARDY, K. J. COX-2 inhibitors: today and tomorrow. **Am. J. Med. Sci.**, v. 323, n. 4, p. 181-189, 2002.

McNEELY, W.; GOA, K. L. Diclofenaco-potassium in migraine: a review. **Drugs**, v. 57, n. 6, p. 991-1003, 1999.

MEALEY, B. L.; KLOKKEVOLD, P. R. Medicina Periodontal. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 13, p. 204-217.

MITCHELL, J. A.; EVANS, T. W. Cyclooxygenase-2 as a therapeutic target. **Inflamm. Res**, v. 47, suppl. 2, p. S88-92, 1998.

MORGAN, D. B.; CARVER, M. E.; PAYNE, R. B. Plasma creatinine and urea: creatinine ratio in patients with raised plasma urea. **Br. Med. J.**, v. 2, p. 929-932, 1977.

NEWMAN, M. G. O Periodonto normal. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 1, p. 13.

NIEDERBERGER, E.; TEGEDER, I.; VETTER, G.; SCHMIDTKO, A.; SCHMIDT, H.; EUCHENHOFER, C.; BRAUTIGAM, L.; GROSCH, S.; GEISLINGER, G. Celecoxibe loses its anti-inflammatory efficacy at high doses through activation of NF-kappaB. **FASEB J.**, v. 159, p. 1622-1624, 2001.

NOVAES, G. S.; MELLO, S. B. Atividade das enzimas ciclooxigenase e drogas anti-reumáticas modificadoras de doença. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 40, n. 2, p. 43-54, 2000.

NOVAK, M. J. Classificação das doenças e condições que afetam o periodonto. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 4, p. 58-65.

O'CONNOR, N.; DARGAN, P. I.; JONES, A. L. Hepatocellular damage from non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Q. J. Med.**, v. 96, p. 787-791, 2003.

OATES, J. A.; FITZGERALD, G. A.; BRANCH, R. A.; JACKSON, E. K.; KNAPP, H. R.; ROBERTS, L. J. 2<sup>nd</sup>. Clinical implications of prostaglandin and thromboxane formation (1). **N. Engl. J. Med.**, v. 319, n. 11, p. 689-698, 1988.

OFFENBACHER, S.; HEASMAN, P. A.; COLLINS, J. G. Modulation of Host PGE<sub>2</sub> Secretion as a Determinant of Periodontal Disease Expression. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 5, p. 432-444, 1993.

OTTO, J. C.; SMITH, W. L. Prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2. **J. Lipid Mediat. Cell Signal**, v. 12, n. 2-3, p. 139-156, 1995.

PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. **Periodontitis in man and other animals: a comparative review**. Basel, Switzerland: Karger, 1982.

PAQUETTE, D. W.; WILLIAMS, R. C. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. **Periodontology**, v. 24, p. 239-252, 2000.

\_\_\_\_\_. Rapid chairside diagnostic test for periodontitis: current status and critical assessment. **J. Periodontol.**, v. 15, p. 4-8, 1994.

PATRIGNANI, P.; TACCONELLI, S.; SCIULLI, M. G.; CAPONE, M. L. New insights into COX-2 biology and inhibition. **Brain Res. Rev.**, v. 48, n. 2, p. 352-359, 2004.

PAULSON, S. K.; ZHANG, J. Y.; BREAU, A. P.; HRIBAR, J. D.; LIU, N. W.; JESSEN, S. M.; LAWAL, Y. M.; COGBURN, J. N.; GRESK, C. J.; MARKOS, C. S.; MAZIASZ, T. J.; SCHOENHARD, G. L.; BURTON, E. G. Pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of celecoxibe in rats. **Drug Metab. Dispos**, v. 28, n. 5, p. 514-521, 2000a.

PAULSON, S. K.; ZHANG, J. Y.; JESSEN, S. M.; LAWAL, Y.; LIU, N. W.; DUDKOWSKI, C. M.; WANG, Y. F.; CHANG, M.; YANG, D.; FINDLAY, J. W.; BERGE, M. A.; MARKOS, C. S.; BREAU, A. P.; HRIBAR, J. D.; YUAN, J. Comparison of celecoxibe metabolism and excretion in mouse, rabbit, dog, cynomolgus monkey and rhesus monkey. **Xenobiotica**, v. 30, n. 7, p. 731-744, 2000 b.

PINHO, M. N.; TABA JR, M.; GRISI, M. F. M.; NOVAES JR, A. B.; SOUZA, S. L. S.; PALIOTO, D. B.; PEREIRA, L. B. Uso de Antiinflamatórios Não-Esteróides no Tratamento das Doenças Periodontais Crônicas. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v. 58, n. 3, p. 202-204, 2004.

POURZARANDIAN, A.; WATANABLE, H.; RUWANPURA, S. M. P. M.; AOKI, A.; NOGUCHI, K.; ISHIKAWA, I. Er: YAG laser irradiation increases prostaglandin E<sub>2</sub> production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts. **J. Periodontal Res.**, v. 40, p. 182-186, 2005.

PRESCOTT, S. M. Is cyclooxygenase-2 the alpha and the omega in cancer. **J. Clin. Invest.**, v. 105, p. 1511-1513, 2000.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap.16, p. 277-297.

ROSSOMANDO, E. F.; WHITE, L. A Novel method for the detection of TNF-alpha in gingival crevicular fluid. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 5, p. 445-449, 1993.

RUTKAUSKAS, J. S. Necessidade médica de cuidados periodontais. In: WILLIAMS, R. C.; OFFENBACHER, S. **Periodontologia 2000. Medicina periodontal.** São Paulo: Santos, 2005. n. 7, p. 151-156.

SAITO, T.; MURAKAMI, M.; SHIMAZAKI, Y.; OOBAYASHI, K.; MATSUMOTO, S.; KOGA, T. Association between alveolar bone loss and elevated serum C-reactive protein in Japanese men. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 12, p. 1741-1746, 2003.

SALLAY, K.; SANAVI, F.; RING, I.; PHAM, P.; BEHLING, U. H.; NOWOTNY, A. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **J. Periodontal Res.**, v. 17, p. 263-274, 1982.

SAMEJIMA, Y.; EBISU, S.; OKADA, H. Effect of infection with *Eikenella corrodens* on the progression of ligature-induced periodontitis in rats. **J. Periodontal Res.**, v. 25, p. 308-315, 1990.

SAVAGE, M. G.; HENRY, M. A. Preoperative non-steroidal anti-inflammatory agents: Review of the literature. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontol.**, v. 98, n. 2, p. 146-152, 2004.

SCHEIMAN, J. M. Outcomes studies of the gastrointestinal safety of cyclooxygenase-2 inhibitors. **Clev. Clin. J. Med.**, v. 69, Suppl. 1, p. 40-46, 2002.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase isozymes: The Biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacol. Rev.**, v. 56, p. 387-437, 2004.

SIQUEIRA Jr, J. F.; DANTAS, C. J. S. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação.** Rio de Janeiro: Medsi, 2000.

SMITH, C. J.; ZHANG, T.; KOBOLDT, C. M.; MUHAMMAD, J.; ZWEIFEL, B. S.; SHAFFER, A.; TALLEY, J. J.; MAASFERRER, J. L.; SEIBERT, K.; ISAKSON, P. C. Pharmacological analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 95, p. 13313-13318, 1998.

SMYTH, E. M.; BURKE, A.; FITZGERALD, A. Autacóides derivados de lipídeos: eicosanóides e fator de ativação das plaquetas. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica.** 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. cap. 25, p. 585-600.

STEINBACH, G.; LYNCH, P. M.; PHILLIPS, R. K.; WALLACE, M. H.; HAWK, E.; GORDON, G. B.; WAKABAYASHI, N.; SAUNDERS, B.; SHEN, Y.; FUJIMURA, T.; SU, L. K.; LEVIN, B. The effect of celecoxibe, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. **N. Engl. J. Med.**, v. 342, p. 1946-1953, 2000.

SZABO, S.; TRIER, J. S.; BROWN, A.; SCHNOOR, J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, p. 228–236, 1985.

TATAKIS, D. N. Interleukin-1 and bone metabolism: a review. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 5, p. 416-431, 1993.

THUN, M. J.; HENLEY, S. J.; PATRONO, C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 94, p. 252-266, 2002.

VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 38, p. 97-120, 1998.

VANE, J. R.; CORIN, R. E. Prostacyclin: a vascular mediator. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, v. 26, n. 6, p. 571-578, 2003.

WAHL, S. M.; COSTA, G. L.; MIZEL, D. E.; ALLEN, J. B.; SKALERIC, U.; MANGAN, D. F. Role of Transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. **J. Periodontol.**, v. 64, n. 5, p. 407-415, 1993.

WALLACE, J. L.; Del SOLDATO, P. The therapeutic potential of NO-NSAIDs. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 17, p. 11-20, 2003.

WILLIAMS, R. C. Periodontal disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 373-376, 1990.

WILLIAMS, R. C.; OFFENBACHER, S. Medicina periodontal: o despertar de um novo ramo da periodontologia. In: WILLIAMS, R. C.; OFFENBACHER, S. **Periodontologia 2000**. Medicina periodontal. São Paulo: Santos, 2005. n. 7, p. 9-12, 2005.



**ANEXO**

B285e Barroso, Márcia Vieira Barreira

Eficácia e segurança dos inibidores da ciclooxigenase celecoxibe e diclofenaco na periodontite induzida em ratos/ Márcia Vieira Barreira Barroso. 2008.

70f.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes

Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vilma de Lima

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Fortaleza, 2007.

1. Periodontite. 2. Celecoxibe. 3. Diclofenaco. 4. Ratos. I.  
Moraes, Maria Elisabete Amaral de (Orient.). II. Título.

CDD T 617.632