

Efeitos da Sinvastatina como coadjuvante no tratamento da doença periodontal induzida em ratos

Effects of Simvastatin as supporting in the treatment of periodontal disease induced in rats

Eduardo Quintão Manhanini Souza

Mestrando em Ciências Odontológicas pela Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Andressa Araújo Swerts

Professora Mestre Horista da Universidade José do Rosário Vellano (Unifenas-MG)

Simone Ribeiro Bruzadelli

Professora Mestre de Periodontia da Universidade José do Rosário Vellano (Unifenas-MG)

Maísa Ribeiro Pereira Lima Brigagão

Professora Doutora Adjunto da UNIFAL

Daniela Coelho de Lima

Professora Doutora Adjunto III da Disciplina de Saúde Coletiva e Ergonomia e Biossegurança da UNIFAL

Leandro Araújo Fernandes

Professor Doutor Adjunto III da UNIFAL

RESUMO

O estudo avaliou a Sinvastatina no tratamento da doença periodontal (DP) em ratos. Trinta e seis animais foram divididos em Grupo Controle (C) que receberam oralmente soro fisiológico e Sinvastatina (S) que receberam oralmente Sinvastatina. Após 24 horas, a DP foi induzida utilizando-se um fio de algodão na região dento-gengival dos primeiros molares inferiores esquerdos. Após 7 dias, a ligadura foi removida e os animais receberam raspagem e alisamento radicular (RAR) e irrigação com soro fisiológico. Os animais foram eutanasiados aos 7, 15 e 30 dias. Radiograficamente, o tratamento com RAR mostrou uma menor perda óssea (PO) no Grupo S comparado ao C em todos os períodos. Concluiu-se que a Sinvastatina associada à RAR foi efetiva na redução da PO em ratos.

Palavras-chave: Sinvastatina; periodontite; ratos.

ABSTRACT

The study evaluated simvastatin in the treatment of periodontal disease (PD) in rats. 36 animals were divided into control group (C) receiving oral saline and Simvastatin (S) who received oral simvastatin. After 24 hours the PD was induced using a cotton yarn in the dento-gingival area of the first left molar. After 7 days the ligature was removed and animals received scaling and root planing (SRP) and irrigation with saline. The animals were sacrificed at 7, 15 and 30 days. Radiographically treatment with SRP showed less bone loss (BL) in the S group compared to C in all periods. It was concluded that SRP associated with simvastatin was effective in reducing the BL in rats.

Keywords: Simvastatin; periodontitis; rats.

Introdução

A doença periodontal (DP) é o resultado da destruição dos tecidos de suporte do elemento dental pela ação local de micro-organismos periodontopatogênicos. Esses micro-organismos liberam substâncias que agredem diretamente os tecidos periodontais e induzem a destruição tecidual pelas respostas inflamatórias e imunológicas do próprio hospedeiro (1). Além disso, fatores sistêmicos podem influenciar no desenvolvimento de doenças periodontais mais agressivas (2).

O tratamento da doença periodontal baseia-se na redução da microbiota subgengival patogênica pela raspagem e alisamento radicular (RAR) (3). Entretanto, a terapia mecânica utilizada isoladamente pode falhar na redução de bactérias patogênicas por localizarem-se no interior dos tecidos moles, duros ou em áreas inacessíveis aos instrumentos periodontais como áreas de furca e depressões radiculares (4).

Considerando o papel proeminente do hospedeiro, como principal componente da destruição de tecidos moles e duros observada na periodontite, estratégias terapêuticas, como a modulação farmacológica da resposta do hospedeiro, tem surgido como uma nova abordagem de tratamento (5, 6).

As estatinas são drogas inibidoras da enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase, conduzindo a gestão da produção do colesterol (7, 8). Dentre as várias estatinas, tem-se a Sinvastatina, um inibidor da HMG-CoA redutase, que tem sido amplamente utilizada na prática clínica, no controle dos níveis de colesterol. Com isso, além de sua função hipolipemiante, esta estatina destaca-se por outros efeitos secundários, incluindo anti-inflamatório (9), imunomodulatório, antioxidante, bem como a promoção da angiogênese e aumento da diferenciação dos osteoblastos, induzindo a formação óssea (10). Tais propriedades oferecem grande potencial para estatinas modificarem o curso de doenças inflamatórias crônicas (11), dentre as quais podem ser incluídas as periodontites crônicas.

Sendo assim o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da Sinvastatina no tratamento da DP induzida em ratos.

Material e Métodos

O presente estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) (registro número 472/2012) da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG, seguindo as normas vigentes adotadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

• Animais

Foram utilizados 36 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos, pesando aproximadamente 200 a 250g, com 2 a 3 meses de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com no máximo cinco animais cada, separados de acordo com o grupo experimental e alimentados com ração e água *ad libitum*.

• Delineamento do Estudo

Os animais do Grupo Controle (C) (n = 18) receberam por via oral 0,5mg/Kg



de peso corpóreo de soro fisiológico e os animais do grupo tratado 0,5mg/Kg de peso corpóreo de Sinvastatina (S) (n = 18) (12). As administrações iniciaram 24 horas antes da indução da DP, sendo mantidas até o final dos respectivos períodos de eutanásias e realizadas três vezes por semana.

A anestesia dos animais foi realizada através de injeção intramuscular associando 0,4 ml/Kg de Cloridrato de que-tamina (Vetaset – Fort Dodge Iowa – USA) a 0,02 ml/Kg de cloridrato de xilazina (Coopazine – Coopers São Paulo – Brasil).

• Indução da Doença Periodontal Experimental

Com o auxílio de uma pinça modificada para esse fim, adaptou-se um fio de algodão número 24 (Corrente Algodão no 10; Coats Corrente, SP, Brasil) ao redor dos primeiros molares inferiores esquerdos, mantidos em posição por meio de nós cirúrgicos, para a indução experimental da periodontite (13).

• Tratamentos Locais

Decorridos sete dias da indução e evolução da DP, a ligadura foi removida dos molares inferiores esquerdos dos animais dos Grupos Controle e Sinvastatina. Posteriormente, os animais foram tratados com raspagem e alisamento radicular (RAR).

Os procedimentos de RAR foram realizados com Cureta de Gracey Mini - five 5 e 6 (Hu-Friedy MFG. Corporation. Inc. Chicago, USA). As soluções de soro fisiológico foram depositadas no interior da bolsa periodontal lentamente, utilizando seringa (1 ml) e agulha para insulina (13mmx 0,04mm) (Becton Dickinson Ind. Cirur. Ltda, Curitiba, PR, Brasil) sem bisel.

• Períodos Experimentais

A eutanásia dos animais foi realizada nos intervalos de 7, 15 e 30 dias após o tratamento local por meio de superdosagem anestésica (tiopental 150 mg/Kg) (Cristalia, Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP, Brasil).

Após a eutanásia dos animais, as mandíbulas foram removidas e fixadas em solução de formol a 10% por 48 horas. Em seguida, os lados direito e esquerdo das peças foram divididas e o lado esquerdo radiografado.

• Tomada Radiográfica

Sobre uma mesa, as hemimandíbulas esquerdas foram posicionadas com as superfícies vestibulares voltadas para a película radiográfica (Dental IntraoralE-SpeedFilm - Kodak). A padronização das tomadas radiográficas foi obtida da seguinte forma: uso de um aparelho de raios X Pampas - E (General Electric, Milwaukee, EUA), com regime elétrico de 65 kvp, 10 mA; feixe central de raio X incidindo perpendicular ao plano do filme-objeto, em um ângulo de 90° com a superfície da placa óptica; distância focal de 30 cm; tempo de exposição 0,8 segundos.

As radiografias foram reveladas utilizando soluções de

revelador e fixador Kodak, pelo método de revelação clima – tempo (Figuras 1 e 2).

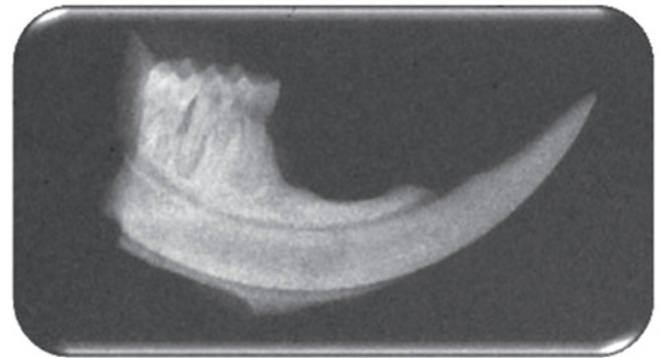


Figura 1. Imagem radiográfica de hemimandíbula do grupo C. Período de 30 dias

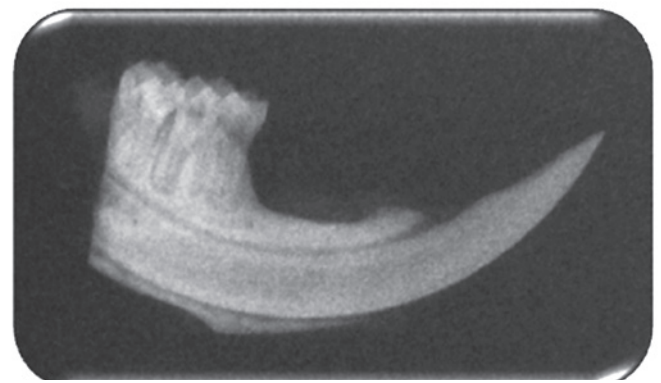


Figura 2. Imagem radiográfica de hemimandíbula do grupo S. Período de 30 dias

As radiografias foram escaneadas e as imagens foram analisadas no programa Imagelab (Softium, Brasil) com o uso da ferramenta distância e ângulo de mensuração. Com este recurso, mediu-se a distância da união cimento-esmalte à crista óssea alveolar na superfície mesial dos primeiros molares inferiores esquerdos pelo traçado de uma linha, sendo essas medidas registradas em milímetros (mm). O mouse era posicionado na região correspondente a união cimento-esmalte. O botão esquerdo era acionado e arrastado até ao nível da crista óssea alveolar e o programa mensurava a distância automaticamente.

• Análise dos Dados

A análise estatística dos dados radiográficos obtidos foi realizada pelo programa BioEstat 3.0 (Bioestat Windows 1995 Sonopress. Indústria Brasileira, Manaus, A.M, Brasil). A hipótese de não haver diferença estatisticamente significativa na taxa de perda óssea na região mesial dos primeiros molares entre os diferentes grupos e períodos nos dentes com periodontite induzida foi testada. Após análise da normalidade dos dados pelo teste Shapiro-Wilk, a análise intra e intergrupos foram realizadas pela análise de variância a dois critérios ANOVA com complementação de Bonferroni ($p < 0,01$).

Resultados

Radiograficamente, após o tratamento local com RAR, a perda óssea (PO) foi significativamente menor no Grupo S ($0,70 \pm 0,23$ mm; $0,75 \pm 0,05$ mm; $0,66 \pm 0,13$ mm) quando comparada aos animais do Grupo C ($1,20 \pm 0,06$ mm; $1,06 \pm 0,10$ mm; $1,50 \pm 0,22$ mm), aos 7, 15 e 30 dias respectivamente ($p < 0,01$) (Tabela I).

Tabela I. Médias e desvios padrões ($M \pm DP$) das distâncias entre a união cimento-esmalte e a crista óssea alveolar (mm) na superfície mesial dos primeiros molares inferiores esquerdos, de acordo com cada grupo e período

Grupo	Controle		
	7 dias	15 dias	30 dias
RAR	$1,20 \pm 0,06^*$	$1,06 \pm 0,10^*$	$1,50 \pm 0,22^*$
Grupo	Sinvastatina		
	7 dias	15 dias	30 dias
RAR	$0,70 \pm 0,23^*$	$0,75 \pm 0,05^*$	$0,66 \pm 0,13^*$
N	12	12	12

*Diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA e Bonferroni, com $p < 0,01$).

Discussão

Ao contrário de outras doenças infecciosas humanas, que não possuem correspondentes em outras espécies, a doença periodontal inflamatória é comum no reino animal. Diferentes modelos animais podem ser utilizados para se avaliar a patogênese ou até mesmo as modalidades terapêuticas possíveis com relação à doença periodontal inflamatória. O rato (*Rattus norvegicus*) é o animal mais utilizado nesses estudos (14), devido à semelhança do seu periodonto com o do homem, tendo como divergência apenas a presença da queratinização do epitélio sulcular (15).

Na análise radiográfica, após RAR, os animais do grupo C apresentaram uma grande PO em todos os períodos experimentais. Estes resultados demonstram que a RAR não foi eficaz para controlar a perda óssea nas áreas de furca nos animais deste grupo. Clinicamente, é provado que a RAR com instrumentos manuais fornece os melhores resultados para o tratamento da doença periodontal (16). No entanto, diversos fatores podem limitar o sucesso da RAR tais como concavidades radiculares, apinhamento dentário, áreas profundas, zonas de bifurcação que dificultam o acesso dos instrumentos manuais na bolsa periodontal. Devidos a estes fatores anatômicos limitantes, terapias coadjuvantes ao tratamento convencional têm sido propostas (17).

Na análise intergrupo, observou-se que os animais do grupo C apresentaram uma perda óssea (PO) significativamente maior do que os animais do grupo S aos 7, 15 e 30 dias, com tratamento de RAR. Este resultado está de acordo com outros trabalhos (18; 19), sugerindo que as propriedades a Sinvastatina previnem a reabsorção óssea inflamatória


na periodontite experimental.

Segundo Luan *et al.* (2003), as estatinas diminuem a produção de muitas citocinas pró-inflamatórias e também favorecem a diminuição da secreção de MMP-1 (metaloproteinases de matriz - 1), MMP-2, MMP-3 e MMP-9 in vitro. Dessa forma, as estatinas poderiam reduzir a intensidade da resposta imunológica da doença periodontal, protegendo os tecidos de suporte dental da destruição (20).

Em uma análise global, os resultados aqui mostrados apontam para a possibilidade do uso de estatinas como moduladores do processo inflamatório associado à doença periodontal. Esta doença é uma enfermidade inflamatório-imunológica de natureza multifatorial, e os nossos dados reforçam o conceito de que danos teciduais resultam de uma complexa interação entre microrganismos e respostas do hospedeiro.

A Odontologia atualmente almeja que, além de dentes saudáveis, a população tenha melhor qualidade de vida. Assim, estudos que visam controlar com maior eficiência a doença periodontal são essenciais para manter a saúde oral e sistêmica dos indivíduos. O uso adequado de compostos coadjuvantes que acelerem e incrementem a eficiência dos tratamentos clínicos já estabelecidos, é, assim, de importância central no processo saúde-doença periodontal.

Conclusão

Dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que a Sinvastatina aplicada sistemicamente associada ao tratamento local de RAR foi efetiva na redução da perda óssea em periodontite experimental induzida em ratos. 

Referências ::

- 1- Kamma JJ, Slots J. Herpes virus bacterial interaction in aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30(5):420-6.
- 2- Breivik T, et al. Neonatal dexamethasone and chronic tianeptine treatment inhibit ligature-induced periodontitis in adult rats. *J Periodontol Res.* 2006;41(1):23-32.
- 3- Sgolastra F, et al. Effectiveness of metronidazole as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodont Res.* 2014;49:10-9.
- 4- Matesanz-Pérez P, et al. A systematic review on the effects of local antimicrobials as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2013;40:227-41.
- 5- Buduneli E, et al. Matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of MMP-1 and laminin-5 $\gamma 2$ chain immunolocalization in gingival tissue of endotoxin-induced periodontitis in rats: effects of low-dose doxycycline and alendronate. *J Periodontol.* 2007;78(1):127-34.
- 6- Preshaw PM, et al. Subantimicrobial dose doxycycline enhances the efficacy of scaling and root planing in chronic periodontitis: a multicenter trial. *J Periodontol.* 2004;75(8):1068-76.
- 7- Junqueira JC, et al. Effects of simvastatin on bone regeneration in the mandibles of ovariectomized rats and on blood cholesterol levels. *J Oral Sci.* 2002;44(3-4):117-24.
- 8- Kronmann, L, Hatfield C, Kronmann K. Statin therapy: not just used to lower cholesterol? *Crit. Care Nurs. Q.* 2007;30(2):154-60.
- 9- Nicholls SJ, et al. Effects of obesity on lipid-lowering, anti-inflammatory, and antiatherosclerotic benefits of atorvastatin or pravastatin in patients with coronary artery disease (from the REVERSAL Study). *Am. J. Cardiol.* 2006;97(11):1553-7.
- 10- Mundy G, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science.* 1999;286(5446):1946-9.
- 11- Barsante MM, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of atorvastatin in a rat model of adjuvant-induced arthritis. *Eur. J. Pharmacol.* 2005;516(3):282-9.
- 12- Morris MS, et al. Injectable simvastatin in periodontal defects and alveolar ridges: pilot studies. *J Periodontol.* 2008;79(8):1465-73.
- 13- Johnson JH. Effects of local irritation and dextran and sufat administration on the periodontium of the rat. *J Periodontol Res.* 1975;10(6):332-45.
- 14- Listgarten MA. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. *J Periodontol.* 1975;46(11):677-80.
- 15- Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol.* 1991;62(1):59-73.
- 16- Lindhe J, et al. Healing following surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1982;9(2):115-28.
- 17- Almeida JM, et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. *J Periodontol.* 2008;79(11):2156-65.
- 18- Dalcico R, et al. Protective Mechanisms of Simvastatin in Experimental Periodontal Disease. *J Periodontol.* 2013;84(8):1145-57.
- 19- Varizi H, et al. Effect of simvastatin administration on periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. *J Periodontol.* 2007;78(8):1561-7.
- 20- Saxlin T, et al. Dual effect of statin medication on the periodontium. *J Clin Periodontol.* 2009;36(12):997-1003.

Recebido em: 20/08/2015 / Aprovado em: 24/09/2015

Eduardo Quintão Manhanini Souza

Universidade Federal de Alfenas-MG

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro

Alfenas/MG, Brasil - CEP: 37130-000

E-mail: eduardoquintao@hotmail.com