

# Influência do tratamento com sinvastatina na periodontite induzida em ratos

*Influence of simvastatin on induced periodontitis in rats*

Meryenn Souza Marcondes  
Francine da Cunha Gomes  
Cirurgiãs-dentistas

Ana Lia Anbinder  
Professora de Patologia e Diagnóstico Bucal do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté (Unitau)

## Resumo

Sinvastatina é um medicamento hipolipidêmico e alguns trabalhos lhe têm associado ação anabólica óssea. Objetivou-se, neste estudo, avaliar seus efeitos na perda óssea causada por periodontite, que foi induzida por ligadura ao redor dos primeiros molares inferiores de 12 ratos. O grupo tratado recebeu, por via oral, 30 mg/kg/dia de sinvastatina, e o grupo controle igual volume de água. Depois de 30 dias, os animais foram sacrificados e as mandíbulas removidas para avaliação da perda óssea alveolar em estereomicroscópio. Após análise estatística, não foi observada diferença entre os grupos. A sinvastatina não foi eficiente para a redução da perda óssea relacionada à periodontite.

**Palavras-chave:** sinvastatina; periodontite; ratos.

## Abstract

*Simvastatin is a hypolipidemic drug and some studies have shown its bone anabolic effect. The purpose of this study was to evaluate the influence of simvastatin on bone loss caused by periodontitis, induced by the placement of a ligature around the first low molars of 12 animals. The treated group received 30mg/kg/day of simvastatin by oral route, and the control group, the same volume of water. After 30 days, the animals were sacrificed and their low jaws were removed for the alveolar bone loss analysis in stereomicroscope. There was no statistical difference between the groups. Simvastatin was not efficient in reducing bone loss related to periodontitis.*

**Keywords:** simvastatin; periodontitis; rats.

## Introdução

As estatinas são medicamentos que têm sido muito utilizados nas duas últimas décadas para a redução de níveis elevados de colesterol sanguíneo, através da inibição da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG CoA) redutase, enzima fundamental para a formação do mevalonato, um intermediário importante no metabolismo do colesterol. Recentes estudos verificaram os efeitos da sinvastatina (um tipo de estatina) na formação óssea através da estimulação da proteína morfogenética óssea (BMP)-2 (9). Visto isso, passou-se a acreditar que as estatinas, se seletivamente direcionadas ao osso, poderiam apresentar efeitos benéficos no tratamento da osteoporose e fraturas (9). Tais fatos suscitaram grande interesse na comunidade científica e estudos foram realizados, demonstrando a ação das estatinas na melhoria da densidade óssea e na redução do número de fraturas (2, 3) ou negando a ação das estatinas no tecido ósseo (7).

Como na doença periodontal predomina a reabsorção e pesquisas relatam a ação das estatinas na formação óssea, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da sinvastatina na perda óssea alveolar causada por periodontite induzida em ratos.

## Material e Método

Para este trabalho foram utilizados 12 ratos adultos, machos (*Rattus norvegicus*, variação *albinus*, Wistar) com, aproximadamente, 120 dias de idade e peso médio de 350g, que foram mantidos em gaiolas em temperatura ambiente e alimentados com ração e água *ad libitum*. Este estudo foi realizado de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade de Taubaté – Unitau (protocolo 020/05).

Os animais foram anestesiados com uma mistura de 13 mg/kg de cloridrato de xilazina 2% (Rompun-Bayer - São Paulo, SP, Brasil) com 33 mg/kg de cetamina base (Dopalen-Vetbrands-Jacareí, SP, Brasil) e imobilizados em mesa apropriada, na qual é possível mantê-los com a boca aberta. A indução da periodontite foi realizada através da inserção de duas voltas de fio de poliéster (Drima- Coats-Corrente- São Paulo, SP, Brasil) ao redor dos primeiros molares inferiores. A amarra das pontas dos fios permaneceu na mesial dos dentes. Os animais foram então divididos em dois grupos: tratado e controle.

A partir do dia seguinte ao da inserção da ligadura, os ratos do grupo tratado receberam, por via oral, 30 mg/kg de sinvastatina diariamente, até o dia do sacrifício, e os animais do grupo controle receberam mesmo volume de água filtrada. A suspen-

são foi preparada no momento da administração, através da mistura de comprimidos de 10 mg de sinvastatina (Sinvascor 10 mg – Baldacci – São Paulo, SP, Brasil) triturados e misturados com água filtrada.

Quatro semanas após a inserção das ligaduras, os animais anestesiados foram decapitados em guilhotina. As mandíbulas foram removidas, o tecido mole excedente eliminado e as peças foram maceradas através de sua imersão em hipoclorito de sódio durante 5 minutos.

Para a demarcação da junção esmalte-cimento, as hemimandíbulas direitas permaneceram durante 30 minutos em solução de azul de metileno 1% (Lasbsynth, Diadema, SP, Brasil) e após foram posicionadas sobre lâminas de vidro com cera utilidade (Epoxiglass, Diadema, SP, Brasil), com a face lingual para cima, objetivando-se o maior paralelismo possível entre as cúspides e entre as raízes linguais e vestibulares para avaliação em lupa estereoscópica. A imagem captada pela lupa, em aumento de 20x, foi digitalizada (Figura 1) e a área entre a junção amelo-cementária e o topo da crista alveolar lingual relacionada ao primeiro molar inferior, denominada de perda óssea alveolar lingual, avaliada utilizando-se o programa computacional Image J 1.31 (National Institute of Health- USA – <http://rsb.info.nih.gov/ij/> Javal.31\_03). Todas as medidas foram tomadas três vezes, em momentos distintos. A análise macroscópica foi realizada por um único observador que desconhecia o grupo ao qual as amostras pertenciam.

Para análise estatística foram utilizadas as médias dos valores obtidos nas três medidas realizadas, para cada amostra. A análise do coeficiente de variação, após as medidas repetidas, foi

utilizada para avaliação da calibração intra-examinador. Para se avaliar o efeito do medicamento na perda óssea alveolar, os dados foram submetidos à estatística descritiva e inferencial (Teste t de Student,  $p < 0,05$ ).

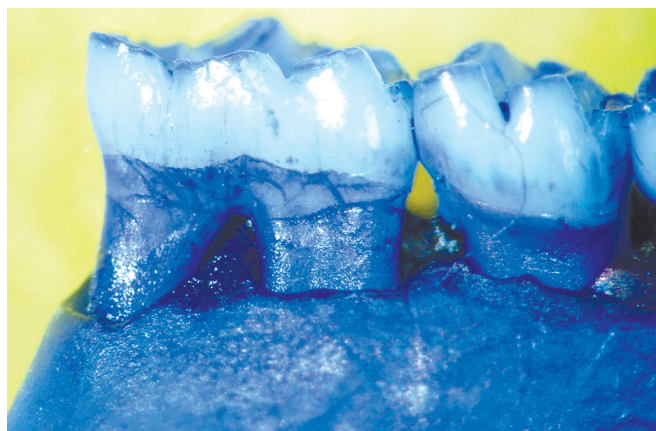


Figura 1. Imagem de hemimandíbula direita em lupa estereoscópica, por lingual, após marcação da junção amelo-cementária, evidenciando perda óssea alveolar devido à periodontite induzida (aumento original de 20x)

## Resultados

Durante avaliação macroscópica das hemimandíbulas, observou-se perda óssea alveolar vestibular, estendendo-se desde a mesial do primeiro molar até a distal do terceiro, mais acentuada na mesial do primeiro molar. Por lingual, a perda óssea foi mais exuberante, estendendo-se da mesial do primeiro molar até a distal do terceiro, também mais acentuada na mesial do primeiro molar.

As medidas de perda óssea alveolar lingual foram tomadas três vezes em momentos distintos e o coeficiente de variação (CV) das medidas repetidas situou-se na faixa de 0,092 a 1,140%, indicando eficiente calibração.

As médias dos valores obtidos foram submetidas à análise estatística descritiva e inferencial (Figura 2). Não houve diferença estatística entre os grupos ( $T = 0,45$ ; grau de liberdade = 9; intervalo de confiança (95%) = 0,0331 a 0,496;  $p = 0,662$ ).

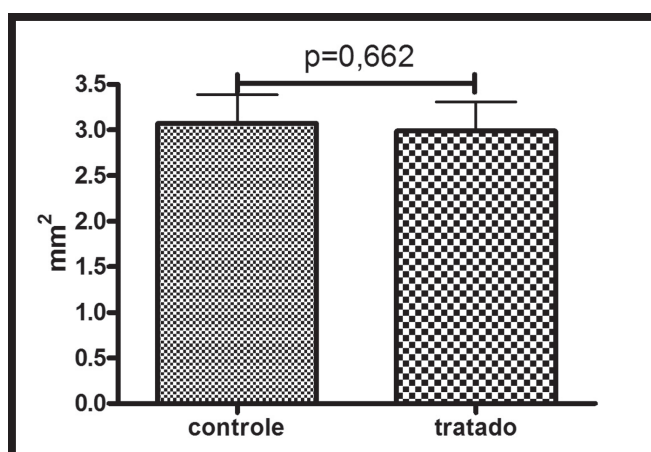


Figura 2. Médias, desvios-padrão e resultado do teste t de Student referentes aos valores de perda óssea alveolar lingual

## Discussão

Modelos animais têm sido largamente utilizados em benefício da compreensão da patogênese da doença periodontal inflamatória e na avaliação de suas variadas modalidades terapêuticas. Embora não se possam esperar respostas idênticas a agressões semelhantes entre as diferentes espécies, modelos animais podem funcionar como modelos de tendências biológicas e fornecer informações impossíveis de se obter em humanos. Os ratos geralmente são alvos de estudos experimentais da doença periodontal inflamatória, devido à grande semelhança com os humanos na anatomia periodontal, desenvolvimento da composição do biofilme dentário, histopatologia das lesões periodontais e imunologia básica, sendo um modelo aceitável para se extrapolar os resultados obtidos com relação à mesma doença em humanos (5). A utilização de ratos para o estudo da doença periodontal quando comparada a de outros animais apresenta algumas vantagens como, por exemplo, o baixo custo, o fácil manuseio e apresentação de características histológicas estruturais bem parecidas com as do homem.

O período de indução da doença periodontal tem variado muito nos trabalhos. RODINI (11) observou microscopicamente que a reabsorção óssea induzida por ligadura se inicia a partir do primeiro dia, atinge seu pico no décimo quarto dia após a indução da doença e se estabiliza a partir de 42 dias. É possível que o efeito da ligadura, quanto ao acúmulo do biofilme dental, seja perdido devido à remodelação óssea que leva à disposição mais coronal da ligadura ao longo do tempo, em relação aos tecidos periodontais adjacentes, a partir de 15 dias (6). No presente trabalho, utilizou-se como

período de observação trinta dias, tempo que foi eficiente para a indução da doença periodontal. Períodos menores de sacrifício poderiam contemplar o momento em que a ligadura e o acúmulo do biofilme induziram a reabsorção ao mesmo tempo em que o medicamento exerceria sua ação, contrapondo o estímulo da reabsorção induzida com a possível ação anabólica da estatina. Da mesma forma, o uso de vários períodos de observação poderia dar subsídios para o entendimento da ação do medicamento ao longo do tempo.

O tempo de administração, as doses do medicamento e sua forma de administração também variam muito nos estudos. MUNDY, GARRET, HARRIS *et al.* (9) administraram 5 a 50 mg/kg/dia do medicamento, por via oral por 35 dias ou 5 a 10 mg/kg/dia, via subcutânea por cinco dias. JUNQUEIRA, MANCINI, CARVALHO *et al.* (4) e ANBINDER, BALDUCCI, ROCHA *et al.* (1) utilizaram 20 mg/kg/dia, por via oral, variando os tempos de administração, de 15 a trinta dias. PYTLIK, JANIEC, MISIARZ-MYRTA *et al.* (10) utilizaram 3 e 6 mg/Kg/dia de sinvastatina através de sonda gástrica por quatro semanas e WONG & RABIE (14) associaram o medicamento à esponja de colágeno em enxertos, utilizando doses de 0,5 mg/kg no local onde confeccionaram um defeito ósseo, sacrificando os animais após 14 dias. Nesse trabalho utilizaram-se 30 mg/kg/dia de sinvastatina, dose intermediária às de MUNDY, GARRET, HARRIS *et al.* (9), por trinta dias. Nesse mesmo período ANBINDER, BALDUCCI, ROCHA *et al.* (1) verificaram aumento da densidade óssea em tíbias e JUNQUEIRA, MANCINI, CARVALHO *et al.* (4), uma melhoria do reparo ósseo em animais ovariectomizados, dados positivos que não foram confirmados nesta pesquisa, em

que o medicamento não influenciou a redução da perda óssea.

Há uma grande controvérsia nos estudos sobre a ação das estatinas na melhoria da qualidade óssea. Estudos em cultura mostraram o aumento da mineralização e estimulação da diferenciação osteoblástica (8) e estimulação da fosfatase alcalina e osteopontina em cultura de células do ligamento periodontal (15). Já em estudos com animais, os resultados apresentam uma maior variabilidade. Alguns autores verificaram o efeito benéfico do medicamento no tecido ósseo através do aumento de volume de osso trabecular (9), aumento da densidade óssea (1), melhoria do reparo ósseo (4, 14) e redução da perda óssea trabecular (10). Foi baseado nesses resultados positivos que este trabalho foi proposto, porém, assim como outros autores (13), não foi verificado a ação do medicamento no tecido ósseo no período analisado. Metodologias com maior sensibilidade que a avaliação macroscópica da perda óssea alveolar, como análise histológica, histomorfométrica e imunistoquímica poderiam evidenciar alterações sutis não observadas.

Embora o exato mecanismo pelo qual as estatinas aumentem a formação óssea ainda necessite ser identificado, uma possibilidade é que pequenas GTPases, prenhaladas por produtos da via metabólica do mevalonato regulem a expressão da BMP-2 negativamente. Através da inibição desta via e prevenindo-se a prenilação e função das GTPases, a expressão da BMP-2 pode ser estimulada, causando proliferação e diferenciação osteoblástica e conseqüente formação óssea (12).

O fato da sinvastatina ser hepatosselativa, ou seja, ter uma maior afinidade com o tecido hepático também dificulta sua

ação no tecido ósseo. Somente novas pesquisas, como a utilização do medicamento de forma local ou modificações em sua estrutura química, podem esclarecer a polêmica atual sobre a ação dos inibidores da HMG-CoA redutase no tecido ósseo.

## Conclusão

De acordo com a metodologia empregada, não foi observada modificação relacionada à formação ou reabsorção óssea quando ratos induzidos à periodontite foram tratados com sinvastatina. 

Recebido em: 07/08/2007

Aprovado em: 01/10/2007

Ana Lia Anbinder

Rua Helena David Neme, 148/61 - Jd. São Dimas

São José dos Campos/SP - CEP: 12245-310

E-mail: [anaanbinder@hotmail.com](mailto:anaanbinder@hotmail.com)

## Referências Bibliográficas

1. ANBINDER, A. L., BALDUCCI, I., ROCHA, R. F. *et al.* Influência da sinvastatina na densidade óssea em tibia de ratos. *RPG Rev. Pós-grad.*, v. 9, p. 331-336, 2002.
2. CHAN, K. A., ANDRADE, S. E., BOLES, M. *et al.* Inhibitors of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and risk of fracture among older women. *Lancet*, v. 355, n. 9222, p. 2185-2188, 2000.
3. EDWARDS, C. J., HART, D. J., SPECTOR, T. D. Oral statins and increased bone-mineral density in postmenopausal women. *Lancet*, v. 355, n. 9222, p. 2218-2219, 2000.
4. JUNQUEIRA, J. C., MANCINI, M. N., CARVALHO, Y. R. *et al.* Effects of simvastatin on bone regeneration in the mandibles of ovariectomized rats on blood cholesterol levels. *J. Oral Science*, v. 44, p. 117-124, 2002.
5. KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J. Periodontol.*, v. 62, p. 59-73, 1991.
6. KURH, A., POPA-WAGNER, A., SCHMOLL, H. *et al.* Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J. Periodont. Res.*, v. 39, p. 101-106, 2004.
7. LACROIX, A. Z., CAULEY, J. A., PETTINGER, M. Statin use, clinical fracture, and bone density in postmenopausal women: results from the women's health initiative observation study. *Ann. Intern. Med.*, v. 139, p. 97-104, 2003.
8. MAEDA, T., MATSUNUMA, A., KAWANE, T. *et al.* Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 280, p. 874-877, 2001.
9. MUNDY, G., GARRET, R., HARRIS, S. *et al.* Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins. *Science*, v. 286, n. 5446, p. 1946-1949, 1999.
10. PYTLIK, M., JANIEC, W., MISIARZ-MYRATA, M. *et al.* Effects of simvastatin on the development of osteopenia caused by ovariectomy in rats. *Pol. J. Pharmacol.*, v. 55, p. 63-71, 2003.
11. RODINE, C. O. *Doença periodontal inflamatória induzida por ligadura: caracterização microscópica e estudo da presença de mastócitos e das enzimas óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e metaloproteínas -2 e -9.* Bauru, 2005, 149 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
12. ROGERS, M. J. Statins: lower lipids and better bones? *Nat. Med.*, v. 6, n. 1, p. 21-23, 2000.
13. VON STECHOW, D., FISH, S., YAHALOM, D. *et al.* Does simvastatin stimulate bone formation in vivo? *BMC Musculoskelet. Disord.*, v. 4, p. 1471-1474, 2003.
14. WONG, R. W. K., RABIE, A. B. M. Statin collagen grafts used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 41, n. 4, p. 244-248, 2003.
15. YAZAWA, H., ZIMMERMANN, B., ASAMI, Y. *et al.* Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J. Periodontol.*, v. 76, n. 2, p. 295-302, 2005.