



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO



**EFEITO DA IRRIGAÇÃO SUBGENGIVAL COM
SERINGA E ULTRASSÔNICA PASSIVA NOS NÍVEIS DE
IL-1 β , IL-6 E TNF- α NA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM RATOS**



SÃO LUÍS-MA

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO

**EFEITO DA IRRIGAÇÃO SUBGENGIVAL
COM SERINGA E ULTRASSÔNICA
PASSIVA NOS NÍVEIS DE IL-1 β , IL-6 E
TNF- α NA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM RATOS.**

SÃO LUÍS-MA

2015

MONIQUE MARIA MELO MOUCHREK

**EFEITO DA IRRIGAÇÃO SUBGENGIVAL COM SERINGA E ULTRASSÔNICA
PASSIVA NOS NÍVEIS DE IL-1 β , IL-6 E TNF- α NA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof^a. Dr^a.Vanessa Camila da Silva

SÃO LUÍS-MA

2015

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Melo Mouchrek, Monique Maria.

Efeito da irrigação subgengival com seringa e ultrassônica passiva nos níveis de IL-1B, IL-6 e TNF-a na periodontite experimental em ratos / Monique Maria Melo Mouchrek. - 2015.

48 f.

Orientador(a): Vanessa Camila da Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, Universidade Federal do Maranhão, 2015.

1. Doenças periodontais. 2. Irrigação terapêutica. 3. Modelos animais de doença. 4. Terapia por ultrassom. I. da Silva, Vanessa Camila. II. Título.

MONIQUE MARIA MELO MOUCHREK

**EFEITO DA IRRIGAÇÃO SUBGENGIVAL COM SERINGA E ULTRASSÔNICA
PASSIVA NOS NÍVEIS DE IL-1 β , IL-6 E TNF- α NA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM RATOS.**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 19/02/2015, considerou a candidata

APROVADO

REPROVADO

1) Examinador: Prof^o. Dr^o Bruno Braga Benatti

2) Examinador: Prof^a. Dr^a. Lívia Helena de Araújo Castro Nunes

3) Presidente (Orientador): Prof^a. Dr^a. Vanessa Camila da Silva

Prof^o. Dr^o Bruno Braga Benatti

Prof^a. Dr^a. Lívia Helena de Araújo Castro Nunes

Prof^a. Dr^a. Vanessa Camila da Silva

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.” (John Ruskin)

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus por ter me permitido sonhar e mais ainda por me presentear com as conquistas. A minha fé em Deus e a certeza de que ele olha por mim certamente me fizeram não desistir.

A minha família, que é minha base e porto seguro, por sempre me estimular a ir mais adiante e por ficar feliz com a minha felicidade.

A minha orientadora, Prof^a Vanessa, que foi realmente isso, uma verdadeira orientadora, que além de orientar, me ensinou, me instigou e me estimulou. Agradeço imensamente por em momento algum fazer o Mestrado pesar mais do que já pesa, pelo simples fato de saber como falar, como corrigir, como alertar. O melhor professor é exatamente esse, o que sabe transmitir. Obrigada, Professora, pelo seu exemplo.

Ao meu namorado, Elísio Neto, por ser muito companheiro nos momentos mais complicados e naqueles em que eu nem podia ser sua companheira. Obrigada por ser meu sol nessa temporada de chuva e às vezes de tempestade.

Agradeço aos meus amigos, de coração, Arethusa, Amanda, Juninho, Flávio, Ana Paula e Fernanda por às vezes de longe, às vezes de perto, torcer por mim, acreditar em mim e se alegrar com cada conquista minha como se fosse sua; e minha turma do Mestrado, as fofuxas Mayara, Marjorie, Cintia, Samantha e Luana, por fazer desse mestrado um clima de harmonia, onde a cumplicidade sempre falou mais alto. Agradeço por esses dois anos de convívio e pela conquista dessas novas amizades.

A querida Josi da PPGO, que com seu jeito delicado sempre nos orientou com paciência, torcendo para o nosso sucesso e conquista em cada passo necessário dentro da pós-graduação. A todos os professores que ministraram disciplinas no decorrer desses 2 anos, sempre buscando a atualização da Odontologia e o engrandecimento da nossa aprendizagem.

Agradeço a turma da LACEMA, que me recebeu com toda paciência e carisma e se tornou peça fundamental para a realização da minha pesquisa. Agradeço também à farmacêutica e técnica do laboratório INLAB por me ajudar de forma espontânea.

Ao colega Cláudio pelos ensinamentos e orientações sempre com muita paciência e zelo, se tornando também essencial para a realização da pesquisa e sua conclusão. A todos que direta ou indiretamente me ajudaram nessa caminhada, com conselhos, dicas, observações, informações e simples palavras.

Aos professores da banca de qualificação e defesa, que certamente engradece esse trabalho. E finalmente agradeço ao LIF, UFMA e PPGO, por me permitirem dar mais um passo na minha profissão, um importante passo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	07
ABSTRACT	08
1 INTRODUÇÃO.....	09
2 CAPÍTULO I -	13
PÁGINA DE TÍTULOS.....	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	18
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO I.....	28
LEGENDAS DAS FIGURAS.....	33
FIGURAS.....	34
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS	38
APÊNDICE A - Parecer Comissão de Ética no Uso de animais.....	43
APÊNDICE B - Dados da análise estatística.....	45
ANEXO A - Diretrizes para publicação de trabalhos na Journal of Periodontoly.....	48

RESUMO

Introdução: A persistência de sítios com doença periodontal após o tratamento com raspagem e alisamento radicular, que é considerado o tratamento padrão ouro não cirúrgico na periodontia, desencadeou a realização de diversos estudos na busca de um tratamento resolutivo para essas situações. Na Endodontia, a irrigação com seringa vem sendo associada à irrigação ultrassônica passiva apresentando uma melhor limpeza e eficácia antimicrobiana. Considerando o benefício encontrado na área endodôntica com o uso desta técnica, buscou-se adaptar a irrigação ultrassônica para uso subgingival. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar se a irrigação subgingival com seringa (IS) e/ou a irrigação subgingival ultrassônica passiva (ISUP) com soro fisiológico (SF), hipoclorito de sódio (HS) e extrato de própolis (PRO) influencia na concentração dos mediadores inflamatórios IL-1 β , IL-6 e TNF- α em periodontite experimental induzida em ratos.

Métodos: Periodontite Experimental foi induzida pela colocação da ligadura nos primeiros molares inferiores de 35 ratos Wistar. Após 14 dias, as ligaduras foram removidas, e os animais submetidos à raspagem, seguido por IS na hemi-mandíbula esquerda e ISUP na direita, com as SF 0,9%, HS 0,1% e PRO 11%. Os animais foram sacrificados 2 dias após o tratamento e submetidos a análise ELISA para avaliação dos níveis das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Os dados foram avaliados pelo programa estatístico IBM SPSS Statistics 20 (2011) e o nível de significância (α) utilizado foi de 5%, ou seja, foi considerado significativo quando $p < 0,05$.

Resultados: A IL-1 β aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo raspagem ($p=0,015$) e reduziu no grupo de IS com HS ($p=0,016$). A IL-6 reduziu nos grupos de IS com SF, HS e PRO em relação ao grupo raspagem ($p=0,007$) e aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo ISUP em relação à IS ($p=0,033$). O TNF- α e as soluções irrigantes não apresentaram diferença estatística entre os grupos.

Conclusão: As técnicas de irrigação com seringa associadas à raspagem apresentaram uma redução da concentração das citocinas inflamatórias quando comparadas ao tratamento somente de raspagem.

Palavras-chave: Irrigação terapêutica. Doenças Periodontais. Terapia por ultrassom. Modelos animais de doenças.

ABSTRACT

Background: The persistence of sites with periodontal disease after treatment with scaling and root planing, which is considered the standard nonsurgical gold treatment in periodontics, triggered the series of studies in the search for an operative treatment for these situations. In Endodontics, irrigation with syringe has been associated with passive ultrasonic irrigation presenting thorough cleaning and antimicrobial efficacy. Whereas the benefit found in endodontic area with the use of this technique, we sought to adapt the ultrasonic irrigation for subgingival use. Thus, the aim of this study was to evaluate the subgingival irrigation with syringe (IS) and / or passive ultrasonic subgingival irrigation (ISUP) with saline (SF), sodium hypochlorite (HS) and propolis extract (PRO) influences the concentration of the inflammatory mediators IL-1 β , IL-6 and TNF- α -induced periodontitis in an experimental rat.

Methods: Experimental periodontitis was induced by placement of the bandage in the first molars of 35 Wistar rats. After 14 days, the bandages were removed, and the animals previously scaled, followed by IS in the left hemi-mandible and ISUP in direira, with SF 0.9%, 0.1% and HS PRO 11%. The animals were sacrificed 2 days after treatment and subjected to ELISA to evaluate the levels of cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α . The data were analyzed by the statistical program SPSS Statistics 20 (2011) and the significance level (α) was 5%, that is, were considered significant when $p < 0.05$.

Results: The IL-1 β increased in a statistically significant way in scraping group ($p = 0.015$) and reduced the IS group with HS ($p = 0.016$). The IL-6 reduced the IS groups with SF, HS and PRO compared to scraping group ($p = 0.007$) and increased in a statistically significant way in ISUP group in relation to IS ($p = 0.033$). TNF- α and irrigating solutions showed no statistical difference between the groups.

Conclusion: The irrigation techniques associated with syringe scraping showed a reduction of the concentration of inflammatory cytokines as compared to treatment only scraping.

Keywords: Periodontal Diseases; Therapeutic Irrigation; Ultrasonic Therapy; Experimental Animal Model.

1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma alteração crônica inflamatória e infecciosa da gengiva e dos tecidos de suporte dos dentes.¹ O biofilme microbiano, composto principalmente por bactérias colonizadoras da superfície dentária, é o agente etiológico primário da DP.² A gengivite consiste em alterações teciduais confinadas à gengiva e são reversíveis com a remoção do biofilme e melhora da higiene oral. Na periodontite, a inflamação se estende mais profundamente aos tecidos conjuntivos subjacentes resultando em destruição dos ligamentos periodontais e reabsorção óssea. A progressão da doença é lenta, caracterizada pela formação de bolsa periodontal detectada na profundidade de sondagem, porém, grande parte da destruição dos tecidos é irreversível.³ A persistência do biofilme microbiano e a íntima proximidade com os tecidos periodontais, induz um estímulo antigênico constante, o qual, por sua vez, influencia na resposta imunológica do hospedeiro.² Assim, a interação entre os patógenos periodontais e a resposta imune inflamatória do hospedeiro é responsável pela destruição do tecido conjuntivo, perda de inserção periodontal e reabsorção do osso alveolar.⁴

A resposta inflamatória e imunológica do hospedeiro envolve a participação de diversos tipos celulares, residentes e migrantes, os quais produzem grande quantidade de mediadores, como as enzimas e citocinas.² A interação entre a periodontite e esses mediadores tem sido demonstrada, uma vez que altas concentrações destas substâncias têm sido associadas a períodos de destruição ativa do periodonto e, após o tratamento periodontal, retornam à normalidade com consequente resolução da inflamação gengival.⁵ Alguns mediadores imunológicos e inflamatórios derivados da destruição periodontal são identificados no fluido do sulco gengival,^{4,6} e as mudanças na composição desses biomarcadores podem ter uma significância diagnóstica e terapêutica.⁶

No processo da doença periodontal, dentre os mediadores inflamatórios envolvidos principalmente na atividade de reabsorção óssea, destacam-se as citocinas do tipo interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).^{6,7} A IL-1 β e o TNF- α estimulam a reabsorção óssea diretamente por induzir a proliferação de progenitores de osteoclastos, e indiretamente por estimular a atividade dos osteoclastos maduros. O bloqueio de tais mediadores contribui positivamente para a inibição de aproximadamente 80% do recrutamento de células inflamatórias e redução de 60% da perda óssea que ocorre na periodontite.⁸ A IL-1 β representa a mais potente citocina indutora de reabsorção óssea, sendo

definida como o componente coordenador dos fatores ativadores de osteoclastos. O TNF- α além de exercer seu papel na reabsorção óssea também auxilia os leucócitos em sua capacidade de adesão às células endoteliais e aumenta a sua capacidade de fagocitose.⁷

Além das citocinas IL-1 β e TNF- α , a IL-6 tem sido apontada como relevante na regulação da reabsorção mediada pelas citocinas⁸. É uma citocina importante envolvida na regulação da resposta do hospedeiro à infecção e lesão de tecidos. É produzida por uma variedade de células como monócitos, fibroblastos, osteoblastos e células endoteliais vasculares.⁹ Apesar de ser encontrada nos tecidos gengivais saudáveis¹⁰ a IL-6 mostra-se mais acentuada em sítios de inflamação periodontal, intimamente associada à atividade da doença.⁷ Dessa forma, as citocinas podem ser consideradas importantes na participação da fisiopatologia das periodontites desencadeando e perpetuando mediadores imunoinflamatórios.⁸

O tratamento não cirúrgico da doença periodontal inclui a remoção mecânica de fatores retentivos de biofilme supra e subgengival utilizando instrumentos manuais ou ultrassônicos.¹¹ Esse debridamento é a base para o tratamento de todas as doenças periodontais inflamatórias e continua sendo o procedimento padrão ouro inicial da terapia não cirúrgica ou cirúrgica.¹² No entanto, a terapia mecânica raspagem e alisamento radicular (RAR) pode não eliminar as bactérias patogênicas que estão alojadas no tecido mole ou em áreas inacessíveis para os instrumentos periodontais, como áreas de bifurcação e concavidades radiculares.¹³ A administração antimicrobiana sistêmica tem sido útil no tratamento da periodontite,¹⁴ e há evidências suportam o seu uso¹⁵, porém, por envolver uma dose relativamente alta por um período prolongado para poder obter as concentrações inibitórias necessárias no fluido sulcular, seu uso tem aumentado a chance de desenvolvimento de resistência bacteriana, dos efeitos adversos e de alteração da microbiota comensal.¹⁴

O uso concomitante da irrigação subgengival com um agente antimicrobiano têm sido proposto juntamente com a instrumentação mecânica para melhorar o efeito da terapia periodontal^{16,17} e minimizar a necessidade de tratamento cirúrgico de bolsas. Essa terapia antimicrobiana local tem a vantagem de proporcionar uma concentração eficaz do fármaco no local da infecção com baixo risco de resistência bacteriana.¹⁸ No entanto, pode causar sensibilidade e irritação tecidual local.¹⁴ O uso clínico de antibióticos e outros agentes antimicrobianos na irrigação subgengival com seringa (IS), como coadjuvantes para o

tratamento da periodontite, tem sido extensivamente investigado^{13,17,18,19} e algumas desvantagens, como ser rapidamente eliminado quando usado subgingivalmente, têm sido encontradas.²⁰ Southard et al., (1989)²¹ mostram um efeito sinérgico da IS com a RAR, porém a melhoria geralmente é mínima. Dessa forma, não há evidência suficiente para indicar que a irrigação subgingival deve ser usada como um procedimento complementar para aumentar os efeitos da RAR.²⁰

Na endodontia, a irrigação é parte essencial do tratamento²² e vários esforços foram feitos para desenvolver sistemas mais eficientes para aplicar e agitar as soluções irrigantes no sistema de canal radicular. O ultra-som é uma onda de vibração ou onda acústica da mesma natureza que o som, mas com uma frequência maior do que é perceptível ao ouvido humano. Dois tipos de irrigação ultrassônica são descritos na literatura: um onde a irrigação é combinada com instrumentação ultrassônica simultânea, e outro sem instrumentação simultânea, chamada de Irrigação Ultrassônica Passiva (IUP).²³

Durante a IUP a energia é transmitida de uma pequena e fina lima oscilante para o irrigante por meio de ondas ultrassônicas que induzem dois fenômenos físicos: o microfluxo acústico e a cavitação acústica da solução irrigante. O microfluxo acústico pode ser definida como um movimento rápido do fluido em forma circular ou de redemoinho em volta da lima de vibração. A cavitação acústica é definida como a criação de bolhas de vapor pela expansão, contração e/ou distorção de bolhas pré-existentes no líquido.²⁴ Dados de estudos *in vitro* mostraram que a IUP resultou em maior redução do número de bactérias^{25,26} e maior remoção de detritos de canais achatados do que a técnica manual.²⁷ Caver et al., (2007)²⁸ em estudo *in vivo* encontrou que o uso da irrigação ultrassônica após a instrumentação manual ou rotatória reduziu de forma significativa as unidades de colônia nos canais de molares. Essa redução pode ser explicada devido a cavitação acústica produzida que desaglomera o biofilme bacteriano tornando a bactéria individualizada mais suscetível causando um enfraquecimento temporário da membrana celular tornando-a mais permeável à ação do hipoclorito de sódio (NaOCl). A efetividade então resulta da alta potência do ultrassom em combinação com a atividade biocida do NaOCl.²⁸

Na periodontia, estudos têm apontado para aplicação do NaOCl como irrigante subgingival.^{29,30,31} A medicação própolis também tem mostrado resultado promissor quando utilizada coadjuvante na RAR.¹⁸ Um estudo comparou o efeito da IS com o efeito da irrigação subgingival ultrassônica passiva (ISUP) com diferentes soluções irrigadoras (soro fisiológico

0,9%, hipoclorito de sódio 0,1% e 0,5%, clorexidina 0,2% e extrato de própolis 11%) em periodontite induzida experimentalmente em ratos e encontrou que a ISUP correspondeu a uma maior área de neoformação óssea e menor extensão de migração epitelial. Não houve diferença significativa entre as soluções utilizadas.³⁰ Dessa forma, o objetivo deste estudo é avaliar se a IS e/ou a ISUP com soro fisiológico 0,9%, NaOCl 0,1% e própolis 11% influencia na concentração dos mediadores inflamatórios Il-1 β , IL-6 e TNF- α em periodontite experimental induzida em ratos.

2. CAPÍTULO I

Efeito da irrigação subgingival com seringa e ultrassônica passiva nos níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF- α na periodontite experimental em ratos.

Artigo a ser submetido à apreciação do *Journal of Periodontology*.

Fator de impacto (JCR 2013): 2.565

Classificação Qualis/CAPES: A1 (Odontologia)

Monique Maria Melo Mouchrek¹

Cláudio Vanucci Silva de Freitas²

Flávia Raquel Fernandes do Nascimento³

Lucilene Amorim Silva⁴

Vanessa Camila da Silva⁵

Autor para correspondência:

Vanessa Camila da Silva

Universidade Federal do Maranhão. Curso de Odontologia – Departamento de Odontologia II.
Av. Portugueses s/n, Campus Bacanga. CEP: 65085-580, São Luís- MA.

Telefone: (98) 3272-8575 E-mail: silvavan@uol.com.br

3.129 palavras

6 figuras

Efeito da irrigação subgingival com seringa e ultrassônica passiva sobre citocinas em ratos.

¹ Graduação em Odontologia. UFMA. Programa de Pós-Graduação de Odontologia.

² Mestrado em Odontologia. UFMA. Programa de Pós-Graduação de Odontologia.

³ Doutorado em Imunologia. UFMA. Departamento de Patologia.

⁴ Doutorado em Patologia. UFMA. Departamento de Patologia.

⁵ Doutorado em Periodontia. UFMA. Departamento de Odontologia II.

RESUMO

Introdução: A persistência de sítios com doença periodontal após raspagem e alisamento radicular desencadeou a realização de estudos buscando um tratamento complementar. Considerando a melhor eficácia da irrigação ultrassônica na endodontia, buscou-se adaptar essa técnica na periodontia. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar se a irrigação subgingival com seringa (IS) e/ou a irrigação subgingival ultrassônica passiva (ISUP) com soro fisiológico (SF), hipoclorito de sódio (HS) e extrato de própolis (PRO) influencia na concentração de IL-1 β , IL-6 e TNF- α em periodontite experimental induzida em ratos.

Métodos: Periodontite Experimental foi induzida com ligadura nos primeiros molares inferiores de 35 ratos Wistar. Após 14 dias, as ligaduras foram removidas, e os animais submetidos à raspagem, seguido por IS no lado esquerdo e ISUP no direito, com SF 0,9%, HS 0,1% e PRO 11%. Os animais foram sacrificados 2 dias após o tratamento e submetidos a análise ELISA para avaliação dos níveis das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Os dados foram submetidos à análise estatística com nível de significância (α) de 5%.

Resultados: A IL-1 β aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo raspagem ($p=0,015$) e reduziu no grupo de IS com HS ($p=0,016$). A IL-6 reduziu nos grupos de IS com SF, HS e PRO em relação ao grupo raspagem ($p=0,007$) e aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo ISUP em relação à IS ($p=0,033$). O TNF- α e as soluções irrigantes não apresentaram diferença estatística entre os grupos.

Conclusão: As técnicas de irrigação com seringa associadas à raspagem apresentaram uma redução da concentração das citocinas inflamatórias quando comparadas ao tratamento somente de raspagem.

Palavras-chave: Irrigação terapêutica. Doenças Periodontais. Terapia por ultrassom. Modelos animais de doenças.

ABSTRACT

Background: The persistence of sites with periodontal disease after scaling and root planing triggered the realization of studies seeking further treatment. Considering the better efficacy of ultrasonic irrigation in endodontics, we attempted to adapt this technique in periodontics. Thus, the aim of this study was to evaluate the subgingival irrigation with syringe (IS) and / or passive ultrasonic subgingival irrigation (ISUP) with saline (SF), sodium hypochlorite (HS) and propolis extract (PRO) influences the concentration of IL-1 β , IL-6 and TNF- α -induced periodontitis in an experimental rat.

Methods: Experimental periodontitis was induced by ligation in the first molars of 35 Wistar rats. After 14 days, the bandages were removed, and the animals previously scaled, followed by IS on the left and on the right ISUP, with SF 0.9%, 0.1% and HS PRO 11%. The animals were sacrificed 2 days after treatment and subjected to ELISA to evaluate the levels of cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α . Data were analyzed statistically with a significance level (α) of 5%.

Results: The IL-1 β increased in a statistically significant way in scraping group ($p = 0.015$) and reduced the IS group with HS ($p = 0.016$). The IL-6 reduced the IS groups with SF, HS and PRO compared to scraping group ($p = 0.007$) and increased in a statistically significant way in ISUP group in relation to IS ($p = 0.033$). TNF- α and irrigating solutions showed no statistical difference between the groups.

Conclusion: The irrigation techniques associated with syringe scraping showed a reduction of the concentration of inflammatory cytokines as compared to treatment only scraping.

Keywords: Periodontal Diseases; Therapeutic Irrigation; Ultrasonic Therapy; Experimental Animal Model.

INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória e imunológica do hospedeiro envolve a participação de diversos tipos celulares, residentes e migrantes, os quais produzem grande quantidade de mediadores, como as enzimas e citocinas.¹ No processo da doença periodontal destacam-se as citocinas do tipo interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).^{2,3} A IL-1 β e o TNF- α estimulam a reabsorção óssea diretamente por induzir a proliferação de progenitores de osteoclastos, e indiretamente por estimular a atividade dos osteoclastos maduros.⁴ A IL-6 é produzida por uma variedade de células como monócitos, fibroblastos, osteoblastos e células endoteliais vasculares.⁵ É uma citocina que estimula a produção de proteínas da fase aguda da inflamação. Apesar de ser encontrada nos tecidos gengivais saudáveis⁶, a IL-6 mostra-se mais acentuada em sítios de inflamação periodontal, intimamente associada à atividade da doença.³

O tratamento não cirúrgico da doença periodontal inclui a remoção mecânica de fatores retentivos de biofilme supra e subgengival utilizando instrumentos manuais ou ultrassônicos.⁷ No entanto, a terapia mecânica de raspagem e alisamento radicular (RAR) pode não eliminar as bactérias patogênicas que estão alojadas no tecido mole ou em áreas inacessíveis para os instrumentos periodontais, como áreas de bifurcação e concavidades radiculares.⁸ O uso clínico de antibióticos e outros agentes antimicrobianos na irrigação subgengival com seringa (IS), como coadjuvantes para o tratamento da periodontite, tem sido extensivamente investigado^{8,9,10,11} e algumas desvantagens, como ser rapidamente eliminado quando usado subgengivalmente têm sido encontradas.¹² Southard et al., (1989)¹³ mostram um efeito sinérgico da IS com a RAR, porém a melhoria geralmente é mínima. Dessa forma, não há evidência suficiente para indicar que a irrigação subgengival deve ser usada como um procedimento complementar para aumentar os efeitos da RAR.¹²

Na endodontia, a irrigação é parte essencial do tratamento.¹⁴ Dois tipos de irrigação ultrassônica são descritos na literatura: um onde a irrigação é combinada com instrumentação ultrassônica simultânea, e outro sem instrumentação simultânea, chamada de Irrigação Ultrassônica Passiva (IUP).¹⁵ Dados de estudos in vitro mostraram que a IUP resultou em maior redução do número de bactérias^{16,17} e maior remoção de detritos de canais achatados do que a técnica manual.¹⁸ Caver et al., (2007)¹⁹ em estudo in vivo encontrou que o acréscimo da irrigação ultrassônica após a instrumentação manual ou rotatória reduziu de forma significativa

as unidades formadoras de colônia nos canais de molares. Essa redução pode ser explicada devido ao fenômeno de cavitação acústica produzida pela onda ultrassônica que desaglomera o biofilme bacteriano tornando a bactéria individualizada mais suscetível e causa um enfraquecimento temporário da membrana celular tornando-a mais permeável à ação do hipoclorito de sódio (NaOCl). A efetividade então resulta da alta potência do ultrassom em combinação com a atividade biocida do NaOCl.¹⁹

Na periodontia, estudos têm apontado para aplicação do NaOCl como irrigante subgingival.^{20,21,22} O extrato de própolis também tem mostrado resultado promissor quando utilizada coadjuvante na RAR.¹⁰ Um estudo comparou o efeito da IS com o efeito da irrigação subgingival ultrassônica passiva (ISUP) com diferentes soluções irrigadoras (soro fisiológico 0,9%, hipoclorito de sódio 0,1% e 0,5%, clorexidina 0,2% e extrato de própolis 11%) em periodontite induzida experimentalmente em ratos e encontrou que a ISUP correspondeu a uma maior área de neoformação óssea e menor extensão de migração epitelial. Não houve diferença significativa entre as soluções utilizadas.²¹ Dessa forma, o objetivo deste estudo é avaliar se a IS e/ou a ISUP com soro fisiológico 0,9%, NaOCl 0,1% e própolis 11% influencia na concentração dos mediadores inflamatórios Il-1 β , IL-6 e TNF- α em periodontite experimental induzida em ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações éticas:

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão aprovou esta pesquisa pelo protocolo de número 23115.015274/2013-34.

Amostra e delineamento experimental:

Considerando a ausência de uma avaliação clínica sobre a ISUP, uma amostra total de 35 ratos (7 por grupo) foi calculada (software G * Power 3.1) usando o teste ANOVA com parâmetros definidos pelo tamanho do efeito = 0,40 (tamanho médio), erro $\alpha = 0,05$ e $\beta = 0,95$.

Foi realizado um estudo controlado, randomizado e cego, utilizando-se um modelo de boca dividida. Um total de 35 ratos Wistar (machos, 200g de peso) foram aleatoriamente distribuídos entre os grupos abaixo. As hemi-mandíbulas nas quais se realizou cada procedimento foram escolhidas por sorteio.

- Grupo Controle (CO) – 7 animais: ligadura no primeiro molar inferior direito por 14 dias. O lado esquerdo foi usado como controle negativo.
- Grupo Raspagem (RA) – 7 animais: ligadura no primeiro molar inferior direito e esquerdo por 14 dias. Remoção da ligadura no 14º dia nos dois lados, seguida de raspagem apenas do lado direito.
- Grupo Soro Fisiológico (SF) – 7 animais: ligadura nos primeiros molares inferiores direito e esquerdo por 14 dias. Remoção das ligaduras no 14º dia, seguida de raspagem em ambos os lados; IS com solução salina a 0,9% no lado esquerdo; e ISUP, com a mesma solução, no lado direito.
- Grupo Hipoclorito de Sódio (HS) – 7 animais: mesmos procedimentos do grupo anterior, utilizando solução de hipoclorito de sódio a 0,1%.
- Grupo Própolis (PRO) – 7 animais: mesmos procedimentos do grupo anterior, utilizando solução de extrato de própolis a 11% (Propomax, Apis Flora, Brasil).

Indução da Doença Periodontal:

A DP foi induzida pelo acúmulo de biofilme bacteriano através da técnica da ligadura⁴ nos primeiros molares inferiores. A colocação da ligadura foi realizada sob anestesia geral, através de injeção intraperitoneal com associação de cloridrato de cetamina a 10% (Cetamin,

Syntec, Brasil) e cloridrato de xilazina a 2% (Xilazin, Syntec, Brasil). Após anestesia, os ratos foram posicionados numa mesa operatória com abertura da cavidade bucal mantida por argolas de aço adaptadas nesta mesa. Depois do correto posicionamento do animal, foi realizado um afastamento dental temporário com auxílio de uma sonda exploradora número 5. Um fio de algodão de cor preta nº 24 (Corrente, Brasil) foi introduzido no espaço interproximal entre o primeiro e segundo molar inferior, e mantido no sulco gengival ao redor do primeiro molar, na posição mais cervical possível, por 2 nós na face vestibular. A ligadura permaneceu por 14 dias nos diferentes grupos.

Procedimentos Terapêuticos:

Após a remoção da ligadura, os animais do grupo RA foram submetidos a raspagem e alisamento radicular com cureta manual Gracey Mini-Five 5/6 (Hu-Friedy, Estados Unidos) estéril e previamente afiada, através de movimentos de tração no sentido disto-mesial nas faces vestibular e lingual²³, repetidos por 5 vezes. Os animais dos grupos SF, HS e PRO foram submetidos a raspagem, seguidos de IS no lado esquerdo e ISUP no lado direito, com a respectiva solução. A IS foi realizada utilizando-se seringa com ponta gauge 30 (Ultradent, Estados Unidos. Figura IA), em 6 sítios diferentes (vestibular, mesio-vestibular, disto-vestibular, lingual, mesio-lingual e disto-lingual), com 0,1 mL da solução irrigante, por 3 vezes em cada sítio (Figura IB).

A técnica da ISUP foi desenvolvida com base na técnica da IUP para canais radiculares²⁴ e adaptada para uso em bolsas periodontais²¹. Em cada um dos 6 sítios descritos anteriormente, a bolsa periodontal foi preenchida com 0,1 mL da solução irrigante; uma ponta ultrassônica não cortante (Irrisafe, Satelec, França. Figura IC) de 0,15 mm de diâmetro e comprimento da ponta ativa adaptado em 5 mm foi introduzida até a porção mais apical da bolsa (Figura ID) e ativada por 2 segundos em baixa frequência (30 MHz). Esse procedimento foi repetido por 3 vezes em cada sítio, com renovação do irrigante a cada repetição.

Os animais do grupo CO foram sacrificados após a remoção das ligaduras e os dos demais grupos 2 dias após a terapia periodontal²⁵, através de superdose anestésica. As amostras de gengiva foram armazenadas em solução RPMI, condicionada a 7°C por 48 horas, sendo em seguida armazenada a -10°C.²⁶

ELISA:

Quantificação das citocinas IL-6 e TNF- α utilizando a técnica de ELISA

As placas foram sensibilizadas overnight com 100µl de anticorpo de captura conforme especificado pelo fabricante⁶. Os poços foram aspirados e lavados 5 vezes com 300µl com solução tampão. Após a última lavagem a placa foi invertida e comprimida em papel absorvente para remover qualquer tampão residual. Posteriormente 200µl de diluente da amostra foram colocadas nos poços e a placa incubada a temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida foi realizada a lavagem e aspiração como descrito anteriormente. As amostras foram diluídas em padrão indicado para o ensaio. Foram pipetadas 100µl da amostra padrão e colocados nos poços apropriados. A placa foi então selada e incubada em temperatura ambiente por 2 horas. Novamente foram realizadas 5 lavagens e foi adicionado 100µl de anticorpo de detecção diluído em cada poço e a placa foi selada e incubada por 30 minutos em temperatura ambiente. As lavagens e aspirações foram realizadas novamente por 7 vezes. Adicionou-se 100µl de solução de substrato TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) em cada poço e a placa foi incubada sem ser selada por 30min em temperatura ambiente no escuro. Finalmente foi adicionado 50 ml de solução de parada em cada poço. A leitura foi feita a 450nm dentro de 30 minutos com uma correção de 570nm.

Quantificação da citocina IL-1β utilizando a técnica de ELISA

Foi adicionado 50 uL de diluente de amostra em cada poço de acordo com as especificações do fabricante⁷. Em seguida foi acrescido 50 uL de amostras em duplicada para cada poço. A placa foi selada e incubada à temperatura ambiente (20-25 ° C) durante 2 horas. Em seguida foi realizada a lavagem da placa por cinco vezes. Após esta lavagem foi adicionado 100 uL de reagente de anticorpo a cada poço. A placa foi selada e incubada à temperatura ambiente durante 30 minutos seguida de lavagem por cinco vezes como antes. Posteriormente foi adicionado 100 uL de solução de estreptavidina-HRP a cada poço preparado. E a placa foi novamente selada e incubada à temperatura ambiente durante 30 minutos e lavada novamente por 5 vezes. Adicionou-se 100 uL de substrato TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) a cada poço. A placa foi colocada no escuro à temperatura ambiente por 30 minutos e em seguida adicionou-se 100 uL de solução de parada para interromper a

⁶ BD OptEIA™/ BD Biosciences/San Diego- USA

⁷ Thermo Scientific/Pierce Biotechnology/Rockford-USA

reação. A absorvância foi medida num leitor de placas a 450 nm menos 550 nm e os resultados foram calculados.

Análise estatística:

Os dados foram avaliados pelo programa estatístico IBM SPSS Statistics 20 (2011). Inicialmente foi feito o teste de normalidade de Shapiro Wilk das variáveis numéricas (IL-1 β , IL-6 e TNF- α). Como todos os grupos da IL-1 β e IL-6 apresentaram distribuição normal na comparação dos 2 grupos (com ou sem doença periodontal induzida por ligadura) e depois com ou sem raspagem eles foram avaliados pelo teste paramétrico t de student pareado e, como a citocina TNF- α não apresentou normalidade, foi avaliada pelo teste não paramétrico de Wilcoxon. Para a comparação entre os 5 grupos (CO, RA, HS e PRO) como as três variáveis (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) não apresentaram normalidade então foram avaliados pelo teste não paramétrico de Friedman. Em todos os testes o nível de significância (α) utilizado foi de 5%, ou seja, foi considerado significativo quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

No grupo controle foram comparados os valores das citocinas em ambos os primeiros molares inferiores com e sem doença periodontal e não foi observado diferença entre os grupos (Figura 2-A).

O grupo RA mostrou um aumento estatisticamente significativo da citocina IL-6 quando comparado ao grupo que teve a indução da DP mas não foi realizado a raspagem (Figura 2-B; $p=0,000$).

A IL-1 β aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo raspagem em relação ao controle (Figura 3; $p=0,015$) e reduziu no grupo de IS com HS (Figura 3; $p=0,016$) em relação ao grupo raspagem.

A IL-6 reduziu nos grupos de IS com SF, HS e PRO em relação ao grupo raspagem (Figura 4; $p=0,007$) e aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo ISUP em relação à IS (Figura 6; $p=0,033$).

A TNF- α não apresentou diferença estatística entre os grupos (Figura 5).

Não foi observado diferença estatisticamente significativa entre as soluções utilizadas ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

As técnicas de irrigação subgingival associadas à raspagem apresentaram uma tendência de redução na concentração das citocinas inflamatórias quando comparadas ao tratamento somente de raspagem.

O modelo de ligadura para indução de periodontite experimental tem sido efetivo conforme observado na literatura.^{4,21} No presente estudo não foram observadas diferenças significativas na concentração das citocinas avaliadas entre os grupos com e sem doença periodontal e um alto desvio padrão foi observado. Antes de ser realizada as técnicas de irrigação, todos os dentes foram submetidos a raspagem visto que isso afeta a composição da microbiota subgingival e é considerado fundamental na terapia periodontal.^{27,28} Portanto, a comparação entre os protocolos de irrigação com as diferentes soluções foi realizada após estabelecer um grupo padrão ouro com raspagem.²⁹

O grupo RA aumentou de forma estatisticamente significativa a IL-1 β em relação ao grupo CO e também mostrou um aumento estatisticamente significativo da citocina IL-6 quando comparado ao grupo com doença e sem raspagem. Estudos relatam uma exacerbação da inflamação após a raspagem e alisamento radicular, só observando redução inflamatória 10 dias após o tratamento.³⁰ Echeverria et al., (1983)³¹ observaram um aumento estatisticamente significativo na profundidade de sondagem imediatamente após raspagem e alisamento radicular havendo redução desta 4 semanas após o tratamento. O aumento da concentração de IL-6 após a raspagem também foi observada em alguns estudos. Oliveira et al., (2012)³² encontraram aumento no nível da IL-6 nas amostra de fluido gengival seis meses após a terapia periodontal. Ide et al., (2004)³³ examinaram amostras de sangue 30, 60 e 120 minutos após o tratamento da doença periodontal com instrumentos manuais e ultrassônicos para raspagem e encontraram um aumento estatisticamente significativo do nível de IL-6 nos 60 minutos após o início do tratamento e maior aumento ainda após 120 minutos. Guillot et al., (1995)³⁴ relataram que a IL-6 no fluido gengival foi significativamente maior em locais que responderam à terapia do que em sítios que não responderam. Estudos na busca de examinar as concentrações e quantidades totais de citocinas pró-inflamatórias mostraram que a concentração de IL-1 β aumentou gradualmente, após a terapia periodontal e significativamente após 6 semanas.⁵ Da mesma forma que amostras de sangue antes, 1, 7 e 30 dias após a terapia periodontal mostraram um aumento significativo nas concentrações séricas de TNF- α após 24

horas e um aumento, embora não significativo, da IL-1 β , havendo normalização dessas citocinas uma semana e um mês após a terapia.³⁵

A IL-6 é uma citocina que apresenta múltiplas funções, como participação na diferenciação de células B, proliferação das células T, estimulação da hematopoiese e aceleração da reabsorção óssea.³⁶ É uma citocina que tem sido tradicionalmente considerada como um mediador pró-inflamatório uma vez que é induzida por IL-1 e TNF- α no início da reação inflamatória. No entanto, há evidências de que as propriedades anti-inflamatórias da IL-6 predominam nas resposta inflamatórias mostrando que essa citocina também pode atuar como um potente anti-inflamatório.⁶ Esta citocina age de forma sinérgica com a IL-1 β , induzindo a reabsorção óssea. No entanto, tem sido relatado que a IL-6 pode aumentar a produção de uma série de inibidores da matriz metaloproteinase, a supressão da manifestação da IL-1, ao mesmo tempo que pode induzir a síntese de receptor antagonista da IL-1 (IL-1Ra) e a liberação de receptor TNF sugerindo uma propriedade anti-inflamatória.⁵

A IL-1 β é a primeira ativadora da quimiotaxia de outras citocinas, bem como da atividade de adesão de moléculas que facilitam a migração dos leucócitos dentro dos tecidos.³⁶ A concentração de IL-1 β em pacientes com periodontite crônica avançada é significativamente mais alta do que em pacientes sem a doença.³⁷ Em pacientes com periodontite agressiva, o aumento dos níveis de IL-1 β foi relatado no fluido do sulco gengival e no tecido periodontal. As quantidades de IL-1 β foram estreitamente associado com a gravidade da doença periodontal.³² O aumento da concentração de IL-1 β após a terapia periodontal pode ser resultado de uma redução do volume do fluido gengival após a terapia bem sucedida e tem sido sugerido que o volume total de citocinas no fluido gengival pode ser mais representativo do estado da doença do que a concentração.³⁸

No presente estudo o aumento da concentração da IL-1 β e IL-6 após a terapia de raspagem pode estar associada ao trauma resultante da raspagem subgengival²⁷ e as técnicas de irrigação poderiam corroborar para redução deste mediador inflamatório. A propriedade anti-inflamatória da IL-6 justificaria seu aumento imediatamente após a terapia periodontal realizada considerando o aumento da inflamação pós-tratamento³⁰. No entanto, esse aumento inicial não é definitivo, considerando a diminuição da inflamação após essa fase.^{30,31} Neste estudo a coleta tecidual foi realizada 2 dias após a realização do tratamento periodontal para avaliar as fases iniciais da cicatrização, considerando que os níveis elevados das citocinas estão relacionados a sítios predominantemente ativos e fases iniciais pós-terapia.²⁵

Os grupos com IS independente da solução irrigante utilizada mostraram uma redução significativa da concentração da citocina IL-6 quando comparados ao grupo RA e grupo IS com HS reduziu de forma estatisticamente significativa a concentração de IL-1 β em relação ao grupo RA, indicando que associar a raspagem com a IS resulta em menor concentração dessas citocinas inflamatórias. No entanto, os grupos com IS não foram estatisticamente diferentes do grupo controle. A comparação entre as técnicas IS e ISUP mostrou uma diferença estatisticamente significativa na citocina IL-6, onde o grupo com IS apresentou menor concentração dessa citocina. Mesmo sem diferença estatisticamente significativa, os grupos com ISUP apresentaram uma tendência de menor concentração de citocina IL-6 que o grupo controle. Considerando que a IS não reflete em benefícios clínicos para o tratamento da doença periodontal^{12,39,40} e que a irrigação com seringa na endodontia está sendo associada à IUP por apresentar melhoras significantes na remoção de bactérias e detritos dentro dos canais radiculares^{16,18,41} foi realizado uma pesquisa avaliando suporte ósseo e migração epitelial após o uso de ISUP e IS em periodontite induzida experimentalmente em ratos. Na análise histométrica que os grupos tratados com ISUP apresentaram uma média significativamente maior de suporte ósseo e menor de migração epitelial comparado ao grupo tratado com IS e não houve diferença entre as soluções irrigadoras.²¹

O sucesso da terapia periodontal depende em grande parte da eliminação do biofilme, contudo a resposta do hospedeiro também é de fundamental importância no processo inflamatório e destruição tecidual.³⁸ Técnicas que possam colaborar na terapia periodontal são desejadas. Este estudo em animal buscou avaliar a técnica de IUP já usada na Endodontia como coadjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico. Embora a técnica de ISUP não tenha apresentado diferenças significantes na redução da concentração das citocinas, houve uma tendência a redução dos valores em relação a raspagem assim como os grupos tratados com IS.

Apesar deste modelo atual fornecer uma resposta tecidual similar ao ser humano⁴², deve-se salientar que estes resultados são limitados ao modelo animal e não devem ser extrapolados diretamente a uma situação clínica. Os animais do grupo CO foram sacrificados imediatamente após a remoção da ligadura e não houve comparação entre as técnicas de irrigação avaliadas e a cicatrização espontânea, o que pode ser considerada uma limitação do estudo.

A ISUP apresenta um caráter inovador na periodontia e mais pesquisas são necessárias para elucidar seu mecanismo de ação, vantagens e desvantagens no processo de cicatrização periodontal e estabelecer protocolos para uso em estudos clínicos randomizados. Dentro das limitações do estudo, as técnicas de irrigação apresentadas tenderam a reduzir as citocinas avaliadas.

CONCLUSÃO

As técnicas de irrigação subgingival com seringa associadas à raspagem apresentaram uma redução da concentração de IL-1 β , IL-6 e TNF- α quando comparadas ao tratamento somente de raspagem e não houve diferença estatisticamente significativa entre as soluções utilizadas.

REFERÊNCIAS

1. Lima HG, Lara VS. Immunological aspects of inflammatory periodontal disease: involvement of mast cells. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*. 2013;15(3):225-229.
2. Gupta G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- II: Inflammatory mediators, host-response modifiers and chair side diagnostic aids. *J Med Life*. 2012;5(4):390-397.
3. Lins RDAU, Pequeno MT, Melo JPLC, Ferreira RCQ, Silveira EJD, Dantas EM. Bone resorption in periodontal disease: the role of cytokines and prostaglandins. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-fac*. 2007;7(2):29-36.
4. Lima V, Bezerra MM, Leitão RFC, Brito GAC, Rocha FAC, Ribeiro RA. Main inflammatory mediators involved in the physiopathology of periodontitis – role of pharmacological modulators. *R Periodontia*. 2008;18(3):7-19.
5. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid Interleukin-6 and Interleukin-8 levels in chronic periodontitis. *Int J Dent*. 2012;1-8.
6. Balto K, Sasaki H, Staschenco P. Interleukin-6 Deficiency Increases Inflammatory Bone Destruction. *Infect. Immun*. 2001;69(2):744-750.
7. Offenbacher S, Beck JD, Jared HL, et al. Effects of periodontal therapy on rate of preterm delivery- a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2009; 114(3):551-559.
8. Fernandes LA, Martins TM, Almeida JM, et al. Experimental periodontal disease treatment by subgingival irrigation with tetracycline hydrochloride in rats. *J Appl Oral Sci*. 2010;18(6):635-640.

9. Al-Saeed MY, Babay N. The use of povidone-iodine and hydrogen peroxide mixture as an adjunct to non-surgical treatment of slight to moderate chronic periodontitis. *Saudi Dent J.* 2009;21:127-133.
10. Sanghani NN, Shivaprasad BM, Savita S. Health from the hive: propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis – a clinicomicrobiologic study. *J Clin Diagn Res* 2014;8(9):41-44.
11. Vinholis AHC, Figueiredo LC, Junior EM, Marcantonio RAC, Salvador SLS, Goissis G. Subgingival utilization of a 1% chlorhexidine collagen gel for the treatment of periodontal pockets. A Clinical and microbiological study. *Braz Dent J.* 2001;12(3):209-213.
12. Greenstein G, Research S. Therapy Committee of the American Academy of P. Position paper: The role of supra- and subgingival irrigation in the treatment of periodontal diseases. *J Periodontol.* 2005;76:2015-2027.
13. Southard SR, Drisko CL, Killoy WJ, Cobb CM, Tira DE. The Effect of 2% Chlorhexidine Digluconate Irrigation on Clinical Parameters and the Level of *Bacteroides gingivalis* in Periodontal Pockets. *J Periodontol.* 1989;60(6):302-309.
14. Gu LS, Kim JR, Ling J, et al. Review of Contemporary Irrigant Agitation Techniques and Devices. *J Endod.* 2009;35(6):791-804.
15. Van der Sluis LWM, Verluis M, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J.* 2007;40:415-426.
16. Spoleti P, Siragusa M, Spoleti MJ. Bacteriological Evaluation of Passive Ultrasonic Activation. *J Endod.* 2003;29(1):12-14.

17. Huque J, Kota K, Yamaga M, Iwaku M, Hoshino E. Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. *Int Endod J*. 1998;31:242-250.
18. Ribeiro EM, Silva-Souza YTC, Souza-Gabriel AE, Souza-Neto MD, Lorencetti KT, Silva SRC. Debris and Smear Removal in Flattened Root Canals After Use of Different Irrigant Agitation Protocols. *Microsc. Res. Tech*. 2012;75:781–790.
19. Carver K, Nusstein J, Reader A, Beck M. In Vivo Antibacterial Efficacy of Ultrasound after Hand and Rotary Instrumentation in Human Mandibular Molars. *J Endod*. 2007;33(9):1038-1043.
20. Vieira EM, O'Leary TJ, Kafrawy AH. The effect of sodium hypochlorite and citric acid solutions on healing of periodontal pockets. *J Periodontol*. 1982; 53: 71-80.
21. Freitas CVS, Souza EM, Da Silva VC. Efeito da irrigação subgingival ultrassônica passiva no tratamento da doença periodontal induzida em ratos: estudo histológico, histométrico e imunológico. [Dissertação]. São Luís, MA: Universidade Federal do Maranhão;2012.
22. Kamagate A, Kone D, Coulibaly NT, Ahnoux A. [Subgingival irrigation combined with scaling and root planing. Results of a study with chlorhexidine and sodium hypochlorite]. *Odontostomatol Trop*. 2005; 28: 28-32.
23. Garcia V G, Fernandes LA, Macarini V C, De Almeida J M, Martins T M, Bosco A F, Nagata M J, Cirelli JA, Theodoro LH. Treatment of experimental periodontal disease with antimicrobial photodynamic therapy in nicotine-modified rats. *J Clin Periodontol*. 2011;38(12):1106-14.
24. Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. *J Endod*. 1980;6(9):740-3.

25. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-perendy A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2003;30:1046-1052.
26. Moore GE, Gerner RE, Franklin HA. Culture of Normal Human Leukocytes. *JAMA*. 1976;199: 519-524.
27. Petersilka GJ, Ehmke B, Flemmig TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol*. 2002; 28:56-71.
28. Drisko CH. Nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol*. 2001; 25:77-88.
29. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol*. 2002; 29(2):6-16.
30. Lopez N, Belvederessi M. Subgingival Scaling with Root Planing and Curettage: Effects upon Gingival Inflammation: a Comparative Study. *J. Periodontol*. 1977;354-362.
31. Echeverria JJ, Caffesse RG. Effects of gingival curettage when performed 1 month after root instrumentation. *J Clin Periodontol*. 1983;10:277-286.
32. Oliveira APS, Faveri M, Gursky L, et al. Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *J Clin Periodontol*. 2012;39(3):295–302.
33. Ide M, Jagdev D, Coward PY, Crook M, Barclay R, Wilson RF. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, c-reactive protein, tumor necrosis factor- α and Interleukin-6. *J Periodontol*. 2004;75(3):420-428.
34. Guillot JL, Pollock SM, Johnson RB. Gingival Interleukin-6 Concentration Following Phase I Therapy. *J Periodontol*. 1995;66:667-672.

35. D'Aiuto F, Parkar M, Tonetti MS. Acute effects of periodontal therapy on bio-markers of vascular health. *J Clin Periodontol*. 2007;34:124–129.
36. Barros FC, Figueredo CMS, Fischer RG. Polimorfismo de citocinas relacionadas ao processo inflamatório periodontal. *R Ci méd Biol*. 2006;5(2):171-180.
37. Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1b, interleukin 6, b2-microglobulin, and transforming growth factor-a in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch. Oral Biol*. 1999; 44: 535-539.
38. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin 1- β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent*. 2004;32:511-520.
39. Flemmig TF. Locally delivered antimicrobials adjunctive to scaling and root planing provide additional PD reduction and CAL gain in the treatment of chronic periodontitis. *J Evid Based Dent Pract*. 2006;6:220-221.
40. Kalsi R, Vandana KL, Prakash S. Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. *J Indian Soc Periodontol*. 2011; 15: 304-309.
41. Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, West MD, Johnson JD. The Effect of Passive Ultrasonic Activation of 2% Chlorhexidine or 5.25% Sodium Hypochlorite Irrigant on Residual Antimicrobial Activity in Root Canals. *J Endod*. 2003;29(9):562-564.
42. Sallay K, Sanavi F, Ring I, Pham P, Behling UH, Nowotny A. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. *J Periodontal Res*. 1982; 17: 263-274.

LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1- A) Seringa com ponta gauge 30 para IS. B) IS sendo aplicada com a seringa com ponta gauge. C) Ponta ultrassônica de 0,15 mm de diâmetro. D) Ponta ativa introduzida até a porção mais apical da bolsa.

Figura 2 - A) Não houve diferença significativa entre os grupos com e sem doença periodontal. B) O grupo RA mostrou um aumento estatisticamente significativo de IL-6. (p=0,000). Média (pg/mL)

Figura 3 - A IL-1 β aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo raspagem em relação ao controle (p=0,015) e reduziu no grupo de IS com HS (p=0,016) em relação ao grupo raspagem. Média, DP (pg/mL)

Figura 4 - A IL-6 reduziu de forma estatisticamente significativa nos grupos de IS com SF, HS e PRO em relação ao grupo raspagem (p=0,007) Média, DP(pg/mL)

Figura 5 - TNF- α não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Média, DP(pg/mL)

Figura 6 - A IL-6 aumentou de forma estatisticamente significativa no grupo ISUP em relação à IS (p=0,033).

FIGURAS

FIGURA 1 (A,B,C,D)

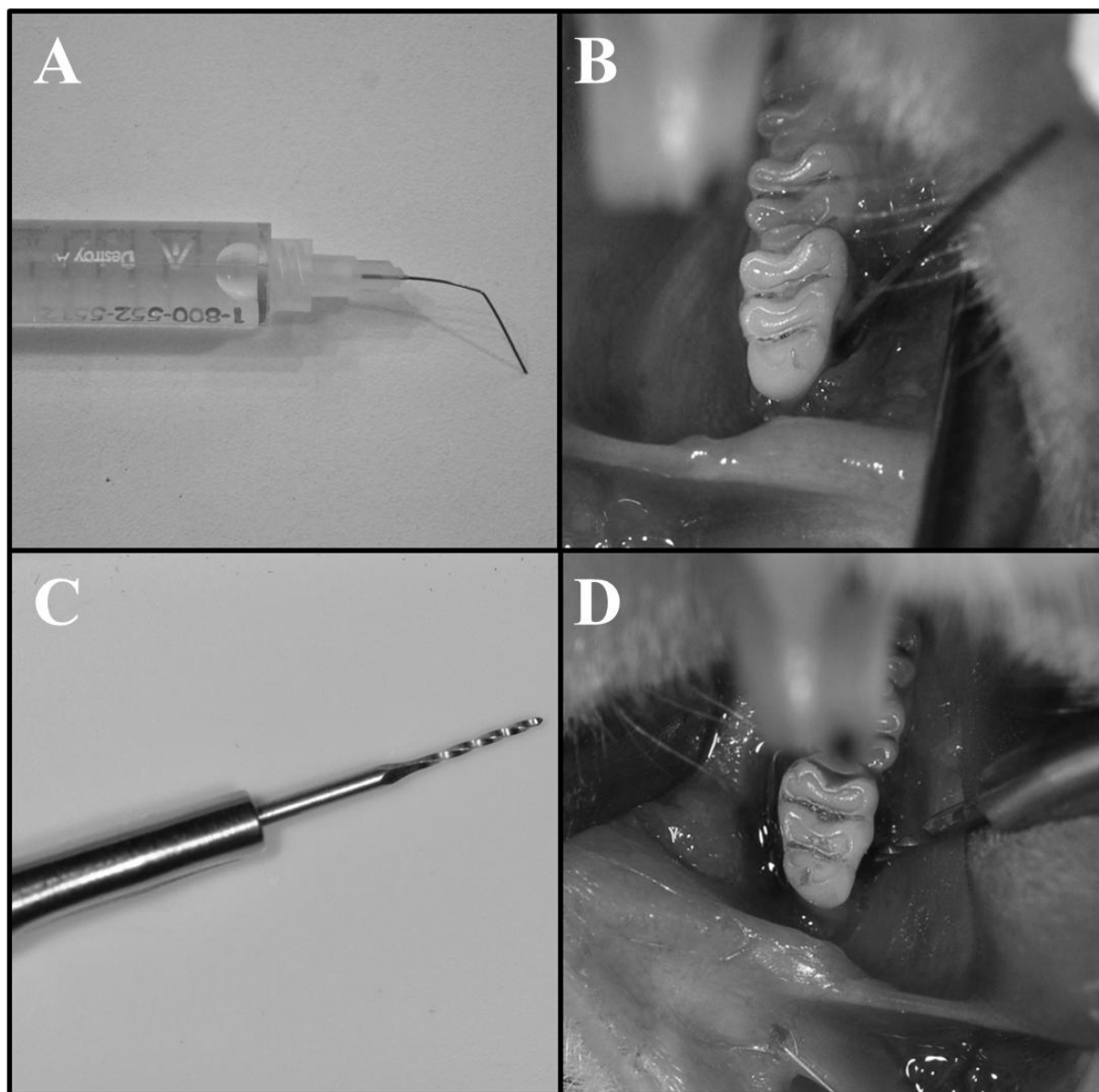


FIGURA 2 (A,B)

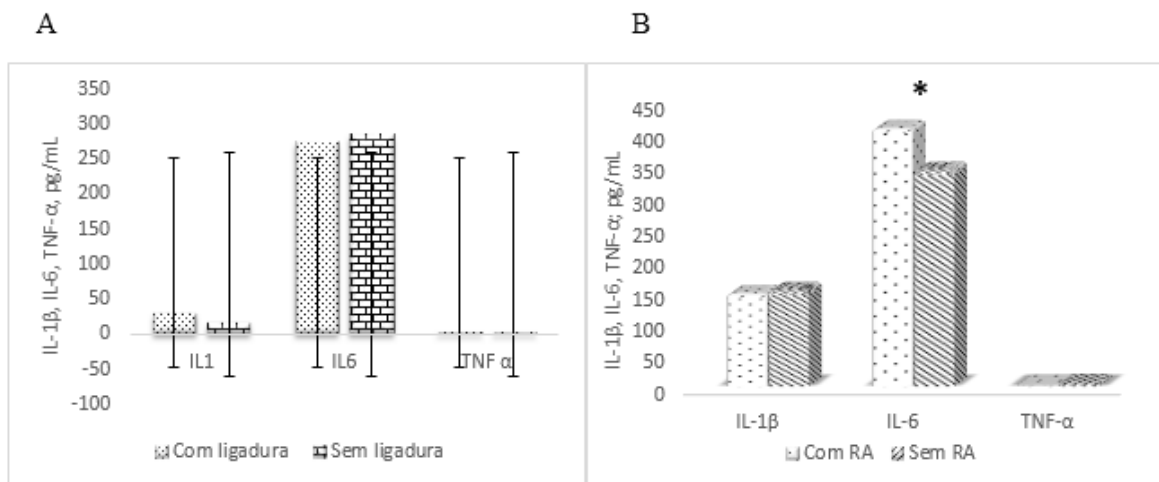


FIGURA 3

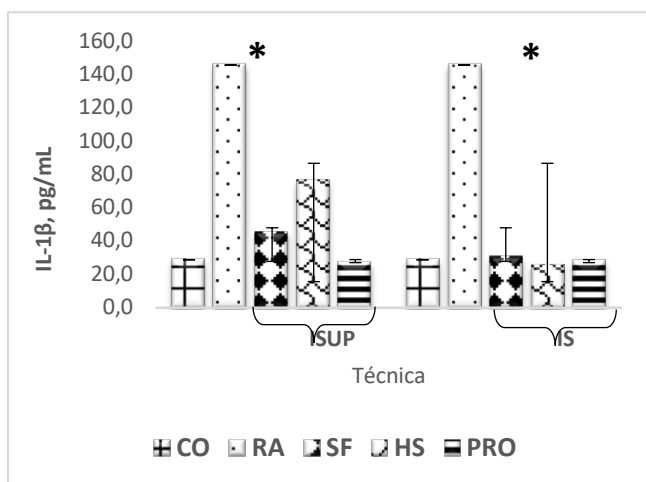


FIGURA 4

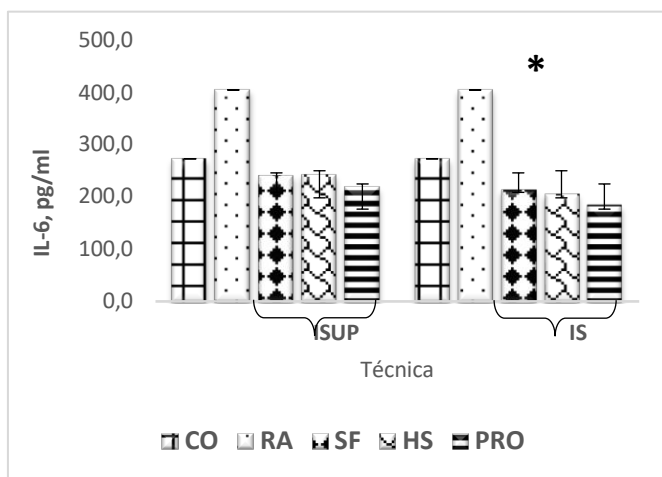


FIGURA 5

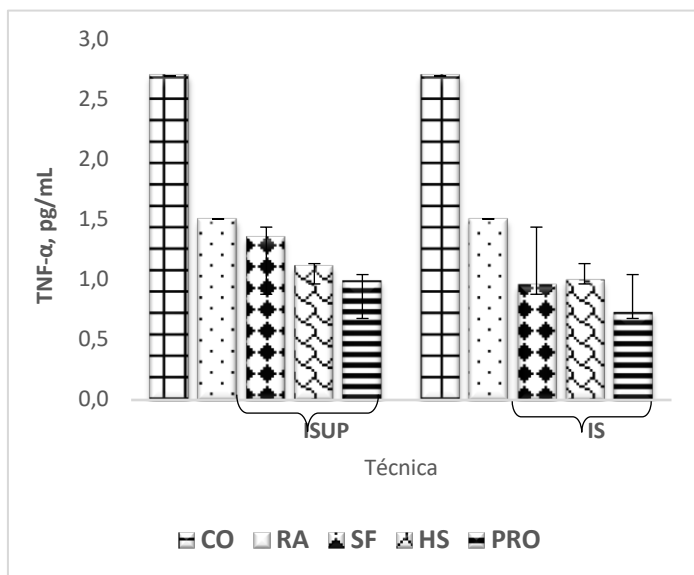
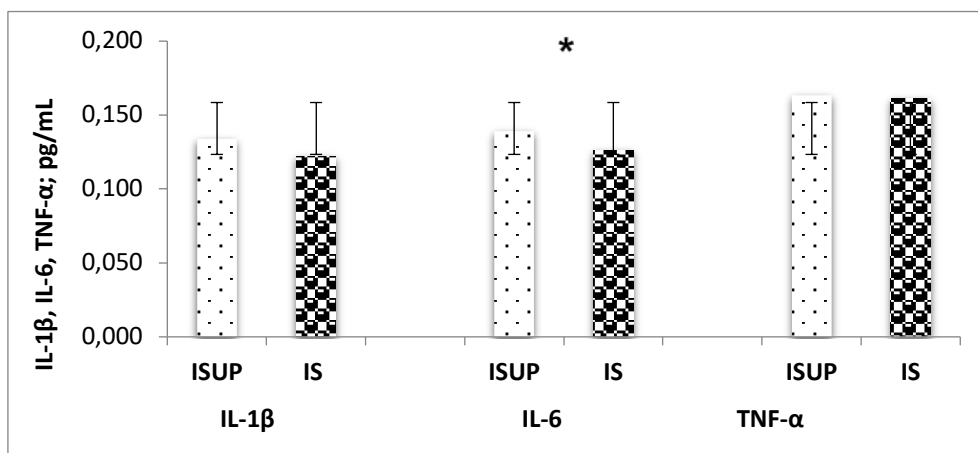


FIGURA 6



3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral houve um aumento da concentração de IL-1 β e IL-6 após a raspagem. A IS teve redução significativa na concentração de IL-1 β e IL-6. E a ISUP mostrou uma tendência a reduzir as concentrações das citocinas de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , o que induz à realização de mais estudos na busca de uma maior elucidação da técnica.

A irrigação subgingival ultrassônica passiva usada neste presente estudo apresenta uma diferente aplicação da raspagem subgingival realizada com ultrassom. Enquanto a raspagem com ultrassom promove a vibração da ponta no cálculo dental buscando sua ruptura, a ISUP evita o contato de corte com a superfície dental buscando ativar o irrigante e melhorar a atuação deste dentro da bolsa periodontal. Na busca por procedimentos que corroborem com a terapia periodontal de raspagem e alisamento radicular, esta técnica poderia complementar o tratamento em pacientes com periodontite crônica avançada e agressiva pela redução da concentração de citocinas inflamatórias.

REFERÊNCIAS

1. ARAUJO AA, SOUZA TO, MOURA LM, et al. Effect of telmisartan on levels of IL-1, TNF- α , down-regulated COX-2, MMP-2, MMP-9 and RANKL/RANK in an experimental periodontitis model. **J Clin Periodontol**, v. 40, p.1104-1111, 2013.
2. LIMA HG, LARA VS. Immunological aspects of inflammatory periodontal disease: involvement of mast cells. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 15, n. 3, p. 225-229, 2013.
3. PRESHAW PM, BISSET SM. Periodontitis. Oral complication of Diabetes. **Endocrinol Metab Clin N Am**, v. 42, p. 849-867, 2013.
4. GOUTOUDI P, DIZA E, ARVANITIDOU M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin 1- β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. **J Dent**, v.32, p. 511-520, 2004.
5. PINHO MM, PINTO PA, ALMEIDA RF, FERREIRA AP, SANZ M. Inflammatory markers in gingival fluid during tooth movement- prospective clinical study. **Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac**, v. 53, n. 1, p. 3-10, 2012.
6. GUPTA G. Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- II: Inflammatory mediators, host-response modifiers and chair side diagnostic aids. **J Med Life**, v. 5, n. 4, p. 390-397, 2012.
7. LINS RDAU, PEQUENO MT, MELO JPLC, FERREIRA RCQ, SILVEIRA EJD, DANTAS EM. Bone resorption in periodontal disease: the role of cytokines and prostaglandins. **Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-fac**, v. 7, n. 2, p. 29-36, 2007.
8. LIMA V, BEZERRA MM, LEITÃO RFC, BRITO GAC, ROCHA FAC, RIBEIRO RA. Main inflammatory mediators involved in the physiopathology of periodontitis – role of pharmacological modulators. **R Periodontia**, v. 18, n. 3, p. 7-19, 2008.
9. GOUTOUDI P, DIZA E, ARVANITIDOU M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid Interleukin-6 and Interleukin-8 levels in chronic periodontitis. **Int J Dent**. p. 1-8, 2012.
10. BALTO K, SASAKI H, STASCENCO P. Interleukin-6 Deficiency Increases Inflammatory Bone Destruction. **Infect. Immun**, v. 69, n. 2, p. 744-750, 2001.
11. OFFENBACHER S, BECK JD, JARED HL, et al. Effects of periodontal therapy on rate of preterm delivery- a randomized controlled trial. **Obstet Gynecol**, v. 114, n. 3, p. 551-559, 2009.

12. DRISKO CL. Periodontal debridement: still the treatment of choice. **J Evid Base Dent Pract**, v.14, p. 33-41, 2014.
13. FERNANDES LA, MARTINS TM, ALMEIDA JM, et al. Experimental periodontal disease treatment by subgingival irrigation with tetracycline hydrochloride in rats. **J Appl Oral Sci**, v. 18, n. 6, p. 635-640, 2010.
14. PURI K, PURI N. Local drug delivery agents as adjuncts to endodontic and periodontal therapy. **J Med Life**, v.6, n.4, p.414-419, 2013.
15. SGOLASTRA F, PETRUCCI A, GATTO R, MONACO A. Effectiveness of Systemic Amoxicillin/Metronidazole as an Adjunctive Therapy to Full-Mouth Scaling and Root Planing in the Treatment of Aggressive Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **J Periodontol**, v.83, p.731-743, 2012.
16. MARC YW, DAVID LJ, JOAN OC, et al. Effects of subgingival irrigation on bacteremia following scaling and root planing. **J Periodontol**, v.61, n.7, p. 405-411, 1990.
17. AL-SAEED MY, BABAY N. The use of povidone-iodine and hydrogen peroxide mixture as an adjunct to non-surgical treatment of slight to moderate chronic periodontitis. **Saudi Dent J**, v.21, p.127-133, 2009.
18. SANGHANI NN, SHIVAPRASAD BM, SAVITA S. Health from the hive: propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis – a clinicomicrobiologic study. **J Clin Diagn Res**, v.8, n.9, p.41-44, 2014.
19. VINHOLIS AHC, FIGUEIREDO LC, JUNIOR EM, MARCANTONIO RAC, SALVADOR SLS, GOISSIS G. Subgingival utilization of a 1% chlorhexidine collagen gel for the treatment of periodontal pockets. A Clinical and microbiological study. **Braz Dent J**, v.12, .3, p.209-213, 2001.
20. GREENSTEIN G, RESEARCH S. Therapy Committee of the American Academy of P. Position paper: The role of supra- and subgingival irrigation in the treatment of periodontal diseases. **J Periodontol**, v.76, p.2015-2027, 2005.
21. SOUTHARD SR, DRISKO CL, KILLOY WJ, COBB CM, TIRA DE. The Effect of 2% Chlorhexidine Digluconate Irrigation on Clinical Parameters and the Level of *Bacteroides gingivalis* in Periodontal Pockets. **J Periodontol**, v.60, n.6, p. 302-309, 1989.


22. GU LS, KIM JR, LING J, et al. Review of Contemporary Irrigant Agitation Techniques and Devices. **J Endod**, v.35, n.6, p.791-804, 2009.
23. VAN DER SLUIS LWM, VERLUIS M, WU MK, WESSELINK PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. **Int Endod J**, v.40, p.415-426, 2007.
24. MOZO S, LHENA C, FORNER L. Review of ultrasonic irrigation in endodontics: increasing action of irrigation solutions. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.17, n.3, p.512-516, 2012.
25. SPOLETI P, SIRAGUSA M, SPOLETI MJ. Bacteriological Evaluation of Passive Ultrasonic Activation. **J Endod**, v.29, n.1, 2003.
26. HUQUE J, KOTA K, YAMAGA M, IWAKU M, HOSHINO E. Bacterial eradication from root dentine by ultrasonic irrigation with sodium hypochlorite. **Int Endod J**. v.31, p.242-250, 1998.
27. RIBEIRO EM, SILVA-SOUZA YTC, SOUZA-GABRIEL AE, SOUZA-NETO MD, LORENCETTI KT, SILVA SRC. Debris and Smear Removal in Flattened Root Canals After Use of Different Irrigant Agitation Protocols. **Microsc Res Tech**, v.75, p.781-790, 2012.
28. CARVER K, NUSSTEIN J, READER A, BECK M. In Vivo Antibacterial Efficacy of Ultrasound after Hand and Rotary Instrumentation in Human Mandibular Molars. **J Endo**, v.33, n.9, p.1038-1043, 2007.
29. VIEIRA EM, O'LEARY TJ, KAFRAWY AH. The effect of sodium hypochlorite and citric acid solutions on healing of periodontal pockets. **J Periodontol**, v.53, p. 71-80, 1982.
30. FREITAS CVS, SOUZA EM, DA SILVA VC. Efeito da irrigação subgingival ultrassônica passiva no tratamento da doença periodontal induzida em ratos: estudo histológico, histométrico e imunológico. 2012. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal do Maranhão, 2012.
31. KAMAGATE A, KONE D, COULIBALY NT, AHNOUX A. Subgingival irrigation combined with scaling and root planing. Results of a study with chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Odontostomatol Trop**, v.28, p.28-32, 2005.
32. GARCIA V G, FERNANDES LA, MACARINI V C, DE ALMEIDA J M, MARTINS T M, BOSCO A F, NAGATA M J, et al. Treatment of experimental periodontal disease with antimicrobial photodynamic therapy in nicotine-modified rats. **J Clin Periodontol**, v.38, n.12, p.1106-1114, 2011.
33. WELLER RN, BRADY JM, BERNIER WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. **J Endod**, v. 6, n.9, p.740-743, 1980.

34. GORSKA R, GREGOREK H, KOWALSKI J, LASKUS-PERENDY A, SYCZEWSKA M, MADALINSKI K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v.30, p. 1046-1052, 2003.
35. MOORE GE, GERNER RE, FRANKLIN HA. Culture of Normal Human Leukocytes. **JAMA**, v.199, p. 519-524, 1976.
36. PETERSILKA GJ, EHMKE B, FLEMMIG TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. **Periodontol**, v.28, p.56-71, 2002.
37. Drisko CH. Nonsurgical periodontal therapy. **Periodontol**, v.25, p.77-88, 2001.
38. COBB CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. **J Clin Periodonto**, v.29, n.2, p.6-16, 2002.
39. LOPEZ N, BELVEDERESSI M. Subgingival Scaling with Root Planing and Curettage: Effects upon Gingival Inflammation: a Comparative Study. **J Periodontol**, p.354-362, 1977.
40. ECHEVERRIA JJ, CAFFESSE RG. Effects of gingival curettage when performed 1 month after root instrumentation. **J Clin Periodontol**, v.10, p.277-286, 1983.
41. OLIVEIRA APS, FAVERI M, GURSKY L, et al. Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. **J Clin Periodontol**, v.39, n.3, p.295-302, 2012.
42. IDE M, JAGDEV D, COWARD PY, CROOK M, BARCLAY R, WILSON RF. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, c-reactive protein, tumor necrosis factor- α and Interlekin-6. **J Periodontol**, v.75, n.3, p. 420-428, 2004.
43. GUILLOT JL, POLLOCK SM, JOHNSON RB. Gingival Interleukin-6 Concentration Following Phase I Therapy. **J Periodontol**, v.66, p.667-672, 1995.
44. BARROS FC, FIGUEREDO CMS, FISCHER RG. Polimorfismo de citocinas relacionadas ao processo inflamatório periodontal. **R Ci Méd Biol**, v.5, n.2 p.171-180, 2006.
45. D'AIUTO F, PARKAR M, TONETTI MS. Acute effects of periodontal therapy on bio-markers of vascular health. **J Clin Periodontol**, v.34, p.124-129, 2007.
46. MOGI M, OTOGOTO J, OTA N, INAGAKI H, MINAMI M, KOJIMA K. Interleukin 1b, interleukin 6, b2-microglobulin, and transforming growth factor-a in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. **Arch. Oral Biol**, v.44, p.535-539, 1999.

47. KALSI R, VANDANA KL, PRAKASH S. Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. **J Indian Soc Periodontol**, v.15, p. 304-309, 2011.

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

APÊNDICE A – PARECER COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

 UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	
PARECER CONSUBSTANCIADO INICIAL	Nº do parecer: 13
PROJETO DE PESQUISA	Registro da CEUA: 13/13 Nº do Protocolo: 23115.015274/2013-34 Data de entrada no CEUA: 14/10/13 Parecer: Aprovado

I – Identificação

Título do projeto:		
Efeito da irrigação subgingival ultrassônica passiva sobre a contaminação bacteriana da superfície radicular e citocinas pró-inflamatórias em dentes submetidos à doença periodontal em ratos.		
Identificação da equipe executora:		
Vanessa Camila da Silva, Erick Miranda Sousa, Cláudio Vanucci Silva de Freitas, Monique Maria Melo Mouchrek, Mariana Almeida Mello Proença, Luc Van der sluis, Ronald Ordinola Zapata		
Instituição onde será realizado: UFMA		
Área temática: Não se aplica	Multicêntrico: Não	Data de recebimento: 14/10/13
Cooperação estrangeira:		Data de devolução: 20/12/13

II – Objetivos:

Objetivo geral:

- Avaliar os efeitos da irrigação subgingival ultrassônica passiva (ISUP) com soluções de hipoclorito de sódio a 0,1%, extrato de própolis sem álcool e soro fisiológico (solução salina a 0,9%) na doença periodontal em ratos induzida por ligadura, através de avaliação imunológica e de microscopia confocal de varredura a laser.

Objetivos específicos:

- Analisar a quantidade e a viabilidade de microorganismos presentes na superfície radicular e nos túbulos dentinários, após tratamento periodontal com raspagem e alisamento radicular (RAR) associada à ISUP, comparando com irrigação com seringa (IS).

- Avaliar a quantidade de citocinas pró-inflamatórias interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral após tratamento periodontal com RAR associada à ISUP, comparando com IS.

- Comparar o efeito de diferentes soluções utilizadas para irrigação.

III – Sumário do projeto:

A irrigação subgingival com antimicrobianos tem sido indicada como coadjuvante à terapia mecânica básica. Estudos recentes demonstraram que a irrigação subgingival ultrassônica passiva (ISUP) parece ter um potencial importante na utilização como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. O objetivo geral do projeto é avaliar os efeitos da ISUP com soluções de hipoclorito de sódio a 0,1%, extrato de própolis sem álcool e soro fisiológico na doença periodontal induzida em ratos. O estudo será controlado, randomizado e cego. O projeto será realizado nas dependências do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e utilizará trinta e cinco ratos da linhagem Wistar, com 2 meses de idade, 200 gramas, provenientes do Biotério Central da UFMA. Os animais serão distribuídos igualmente e aleatoriamente em cinco grupos de sete animais a saber:

Controle, Raspagem, Soro Fisiológico, Hipoclorito de Sódio e Própolis. Serão realizadas análises imunológicas por meio da avaliação de citocinas pró-inflamatórias por ELISA e rt-PCR e os dentes serão removidos para avaliação microbiológica na superfície radicular.

IV – Comentário do relator frente à resolução 779 de 26 de agosto de 2010 e complementares em particular sobre:

O atual projeto trata-se de projeto de dissertação de Mestrado em Odontologia (UFMA) de Monique Maria Melo Mouchrek, o qual será orientado pela Profa Dra. Vanessa Camila da Silva (UFMA). O objetivo geral do projeto é avaliar os efeitos da ISUP com soluções de hipoclorito de sódio a 0,1%, extrato de própolis sem álcool e soro fisiológico na doença periodontal induzida em ratos. O projeto será realizado nas dependências do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). A sua vigência será de 24 meses a iniciar após a aprovação desta comissão, o que é coerente por se tratar de projeto de mestrado. O valor do projeto está orçado em sete mil reais e não tem financiamento próprio, mas os pesquisadores afirmaram que o mesmo fora encaminhado ao CNPq para concorrer ao edital universal.

O projeto está conciso e coerente quanto aos seus objetivos. Os animais serão anestesiados corretamente para realização dos procedimentos com cloridrato de quetamina e cloridrato de xilazina nas concentrações ideais, entretanto, esta informação que consta no formulário (Anexo II da Resolução 779-CONSEPE), deve ser incorporada ao projeto. Os métodos a serem utilizados, tanto em relação à indução da doença periodontal experimental, quanto ao tratamento e análises, estão claros e são baseados em artigos publicados em revistas conceituadas. O projeto utilizará trinta e cinco ratos da linhagem Wistar, com 2 meses de idade, 200 gramas, provenientes do Biotério Central da UFMA. Este número foi escolhido baseado em cálculo amostral explicitado no projeto. Os animais serão distribuídos igualmente e aleatoriamente em cinco grupos de sete animais. Foi informado que os animais serão oriundos do Biotério Central da UFMA, mas é recomendável que seja acrescentado um ofício do Diretor do Biotério garantido a viabilidade do fornecimento ou então, outra fonte onde os animais possam ser adquiridos. Foi dito ainda no formulário que os animais serão manipulados no Biotério central, o que não é possível, sendo necessária a indicação, no projeto, sobre o Biotério de Experimentação no qual os animais serão acondicionados e tratados. Não há informações sobre o destino das carcaças dos animais coletados, o que seria recomendado ser acrescentado. Outra recomendação é que seja anexado o CD referente ao projeto.

V – Pendências

Não há pendências

VI – Recomendações:

- Acrescentar a versão eletrônica do projeto em CD;
- Anexar um documento do Biotério da UFMA concordando em ceder os animais necessários para a pesquisa;
- Inserir no projeto as informações quanto aos anestésicos e dores a serem utilizadas.
- Incluir o destino das carcaças dos animais
- Estas recomendações não inviabilizam o início da execução dos experimentos.

VII – Parecer consubstanciado da CEUA

O projeto intitulado **Efeito da irrigação subgingival ultrassônica passiva sobre a contaminação bacteriana da superfície radicular e citocinas pró-inflamatórias em dentes submetidos à doença periodontal** foi considerado APROVADO pela CEUA/UFMA.

São Luís, _20_/ _12_/ _13_


Prof. Dra. Lucilene Amorim Silva

Presidente da CEUA / UFMA

APÊNDICE B – TABELAS DE DADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

Tabela 1 – Comparação entre os grupos com e sem doença periodontal induzida experimentalmente (DP).

Variável	n	Com ligadura		p Shapiro	Sem ligadura		p Shapiro	Teste	p
		Média	DP		Média	DP			
IL-1β	7	28.9	44.3	0.7069	15.7	28.6	0.6549	t pareado	0.4652
IL-6	7	273.9	117.0	0.2879	283.0	107.3	0.6527	t pareado	0.4711
TNF-α	7	2.7	6.0	0.0074	0.6	1.0	0.0089	Wilcoxon	0.4652

Fonte: Autor

Tabela 2- Comparação entre os grupos com e sem raspagem e alisamento radicular.

Variável	n	Com raspagem		p Shapiro	Sem raspagem		p Shapiro	Teste	p
		Média	DP		Média	DP			
IL-1β	7	145.9	43.0	0.455	150.8	69.5	0.447	t pareado	0.8273
IL-6	7	406.1	101.7	0.316	340.4	117.3	0.578	t pareado	< 0.0001
TNF-α	7	1.5	2.2	0.010	4.6	6.0	0.046	Wilcoxon	0.173

Fonte: Autor

Tabela 3 – Análise da citocina IL-1 β na comparação entre os grupos CO, RA, SF, HS e PRO com a técnica ISUP e entre os grupos CO, RA, SF, HS e PRO com a técnica IS.

Variável	Grupos	Média	DP	P Shapiro	Friedman	Comparação
IL-1 β	CO	28,9	44,3	0,010	0,0159	b
	RA	145,9	43,0	0,455		a
	SF/ISUP	45,1	69,1	0,010		ab
	HS/ISUP	76,4	94,1	0,063		ab
	PRO/ISUP	27,4	49,2	0,009		ab
IL-1 β	CO	28,9	44,3	0,010	0,0163	ab
	RA	145,9	69,5	0,455		a
	SF/IS	30,8	36,8	0,051		ab
	HS/IS	26,1	35,1	0,013		b
	PRO/IS	28,7	31,5	0,058		ab

Legenda: CO = controle; RA = raspagem; SF = soro fisiológico; HS = hipoclorito de sódio; PRO = própolis; ISUP= irrigação subgingival ultrassônica passiva; IS = irrigação com seringa.

Fonte: Autor

Tabela 4 - Análise da citocina IL-6 na comparação entre os grupos CO, RA, SF, HS e PRO com a técnica ISUP e entre os grupos CO, RA, SF, HS e PRO com a técnica IS.

Variável	Grupos	Média	DP	p Shapiro	Friedman	Comparação
IL-6	CO	273.9	117.0	0.288	0.105	
	RA	406.1	101.7	0.316		
	SF - ISUP	241.3	81.3	0.479		
	HS - ISUP	243.2	158.0	0.048		
	PRO - ISUP	218.4	106.3	0.079		
IL-6	CO	273.9	117.0	0.2879	0.007	ab
	RA	406.1	101.7	0.3161		a
	SF - IS	214.8	90.6	0.0236		b
	HS - IS	206.4	115.4	0.0588		b
	PRO - IS	184.3	108.6	0.0394		b

Legenda: CO = controle; RA = raspagem; SF = soro fisiológico; HS = hipoclorito de sódio; PRO = própolis; ISUP= irrigação subgengival ultrassônica passiva; IS = irrigação com seringa

Fonte: Autor

Tabela 5 - Análise da citocina TNF- α na comparação entre os grupos CO, RA, SF, HS e PRO com a técnica ISUP e entre os grupos CO, RA, SF, HS e PRO com a técnica IS.

Variável	Grupos	Média	DP	p Shapiro	Friedman
TNF- α	CO	2.7	6.0	0.007	0.8874
	RA	1.5	2.2	0.010	
	SF - ISUP	1.4	3.6	0.006	
	HS - ISUP	1.1	1.3	0.177	
	PRO - ISUP	1.0	1.5	0.010	
TNF- α	CO	2.7	6.0	0.007	0.892
	RA	1.5	2.2	0.010	
	SF - IS	1.0	2.5	0.006	
	HS - IS	1.0	1.8	0.009	
	PRO - IS	0.7	1.2	0.009	

Legenda: CO = controle; RA = raspagem; SF = soro fisiológico; HS = hipoclorito de sódio; PRO = própolis; ISUP= irrigação subgengival ultrassônica passiva; IS = irrigação com seringa

Fonte: Autor