

Alterações bioquímicas em ratos com doença periodontal e tratados com olmesartana, captopril e atorvastatina

Biochemical changes in rats with periodontal disease and treated with olmesartan, captopril and atorvastatin

Aurigena Antunes Araújo¹, Graziene Lopes de Souza², Gisele Ribeiro da Silva³, Larissa Marina Pereira Silva³, Flávio Maurílio dos Santos Lima⁴, Neida da Mata⁵,

¹Professora Adjunto IV do Departamento de Biofísica e Farmacologia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (UFRN)

²Pós-Graduanda em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Norte ³Acadêmica do Curso de Graduação em Farmácia da UFRN

⁴Biólogo, UFRN

⁵Farmacêutica, UFRN

Resumo

Introdução: A doença periodontal é o processo inflamatório que ocorre na gengiva em resposta a antígenos bacterianos da placa dentária. Como a doença periodontal acomete indivíduos adultos, principalmente, idosos, a presença desta patologia em pacientes com fatores de risco para doenças cardiovasculares, que estão fazendo utilização de medicamentos se torna um achado usual.

Objetivo: verificar as alterações bioquímicas decorrentes da utilização subcrônica de Olmesartana, Captopril e Atorvastatina em animais com doença periodontal. **Metodologia:** Foram utilizados 50 ratos Wistar com pesos entre 250-400g, a doença periodontal foi induzida com ligadura de fio nylon 3-0, por 10 dias, os animais receberam dose oral única e diária de Olmesartana (1 e 10mg/Kg), Captopril (1,5 e 10mg/Kg) e Atorvastatina (1,5 e 10mg/Kg). No 11º dia cada subgrupo foi eutanasiado com Tiopental sódico na dosagem de 20 mg/Kg e o sangue colhido para avaliação bioquímica. As variáveis estudadas foram glicose, creatinina, uréia, colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL, TGO e TGP. A leitura foi realizada no equipamento semiautomático BioPlus 2000®. Para verificar as diferenças entre os grupos estudados foi utilizado o Teste t de Student com nível de significância de 5% no programa Graf Pad Install. **Resultados:** A doença periodontal elevou significativamente os níveis de glicose, LDL-C e colesterol total ($p < 0,05$). Além disso nos animais tratados com atorvastatin, um efeito farmacológico esperado, que era redução nos níveis de LDL-C, e aumento do HDL-C, não foram encontrados. **Conclusão:** O estudo aponta para um importante efeito da doença periodontal, na resposta a medicamentos sistêmicos.

Palavras-chave: Anti-hipertensivos. Reações bioquímicas. Periodonto.

Abstract

Introduction: Periodontal disease is an inflammatory process that occurs in response to the dental bacterial antigens. As periodontal disease affects adults, especially the elderly, the presence of this pathology in patients with risk factors for cardiovascular disease, while are marking use of drugs becomes a usual finding. **Objective:** To verify the biochemical changes resulting from the use of olmesartan, captopril or atorvastatin in animals with periodontal disease. **Methodology:** 50 Wistar rats weighing between 250-400g. Periodontal disease was induced by ligation of 3-0 nylon thread, for 10 days, the animals received a single oral dose and daily olmesartan (1 and 10mg/Kg), captopril (1.5 and 10mg/Kg) and atorvastatin (1.5 and 10mg/Kg). On the 11th day each group was euthanized with sodium thiopental at the dose of 20 mg/kg and blood collected for biochemical evaluation. The variables studied were glucose, creatinine, urea, total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, AST and ALT reading was performed on equipment BioPlus 2000®. To check the differences between groups was used Student's t test with significance level of 5% in Graf Pad Install program. **Results:** Periodontal disease significantly elevated glucose levels, LDL-C and total cholesterol ($p < 0.05$). Also in animals treated with atorvastatin, an expected pharmacological effect, which was a reduction in LDL-C and increasing HDL-C, were not found. **Conclusion:** The study showed an important effect of periodontal disease, in response to systemic medications.

Keywords: Antihypertensive Agents. Biochemical Reactions. Periodontium.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é o processo inflamatório que ocorre na gengiva em resposta a antígenos bacterianos da placa dentária que se acumulam ao longo da margem gengival. A manifestação inicial é a gengivite, caracterizada por hiperemia, edema, recessão e sangramento gengival. Se não tratada precocemente, ela pode evoluir para

periodontite (1). Embora seja um processo patológico localizado na cavidade oral, sofre influencia de doenças sistêmicas, tais como diabetes melitus (2, 3), que podem acelerar a progressão. Ainda, a doença periodontal pode se configurar como fator de risco para aterosclerose e suas conseqüências, uma vez que as bactérias associadas com as doenças periodontais podem colonizar as placas ateromatosas e pode causar danos ao induzir a inflamação local, resultando na propagação dos eventos inflamatórios que conduzem à formação de ateroma, desenvolvimento e eventual ruptura (4).

Correspondência / Correspondence: Aurigena Antunes Araújo. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências. Av. Senador Salgado Filho, Lagoa Nova. CEP: 59075-000 - Natal, RN - Brasil Telephone: (84) 32153419. Email: aurigena@ufrnet.br

Com o aumento da expectativa de vida da população, e como a doença periodontal acomete indivíduos adultos, principalmente, idosos. A presença desta patologia em pacientes com fatores de risco para doenças cardiovasculares, tais como hipertensão arterial e deslipidemias que estão fazendo utilização de medicamentos se torna um achado usual. Estudos tem procurado encontrar uma correlação entre glicose, colesterol, triglicerídeos e doença periodontal (5, 6). O uso de antihipertensivos ou deslipimiantes leva a valores os níveis de colesterol, triglicerídeos e glicemia, no entanto pouco sabe-se o quanto o efeito destes medicamentos pode ser estes níveis bioquímicos podem ser modificado em portadores de doença periodontal. Assim o objetivo deste estudo é verificar as alterações bioquímicas em animais com doença periodontal que fazem uso crônico de antihipertensivo ou deslipimiantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 50 animais, ratos da linhagem Wistar, com idade entre três e três meses do gênero masculino, adultos, normais e saudáveis, pesando 250-400g, provenientes do Biotério do Departamento de Biofísica e Farmacologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Os animais foram criados em caixas de polipropileno, com cama de maravalha, mantidos sob condições controladas de temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), ciclo claro e escuro de 12 horas, comida e água *ad libitum*. Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFRN sob o protocolo 23/2012.

Modelo Experimental para indução da doença periodontal

A doença periodontal foi induzida nos animais utilizando fio de sutura nylon 3-0, com ligadura no 2º molar superior esquerdo e direito. Os animais foram anestesiados com Ketamina (70mg/Kg) e xilazina (10mg/Kg). O tempo de indução da doença periodontal foi de 10 dias. No 11º dia os animais foram sacrificado com tiopental (20mg/Kg).

Grupos

Um número de cinco animais por grupo foi dividido, da seguinte forma:

Um grupo controle negativo (salina, sem doença periodontal); Um grupo controle positivo (salina com doença periodontal); Um grupo experimental olmesartana com doença periodontal (1mg/Kg e 10mg/Kg); 01 grupo experimental Captopril com doença periodontal (1mg/Kg, 5 mg/Kg e 10mg/Kg); Um grupo experimental atorvastatin com doença periodontal (1mg/Kg, 5 mg/Kg e 10mg/Kg). Os medicamentos foram maseados e solubilizados em água destilada, a administração foi realizado por gavagem (v.o.).

No dia anterior ao sacrifício, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum antes da coleta. Foram coletadas amostras de sangue, volume 4mL, através de punção intra-cardíaca. O sangue foi distribuído em tubos sem anticoagulante para análise dos parâmetros bioquímicos. Após a coagulação do sangue em tubos seco, os tubos foram centrifugados durante 10 minutos a 2500 rpm (rotações por minuto) para a separação do soro.

Variáveis estudadas

Foram analisados os seguintes parâmetros bioquímicos: glicose (BioClin®), aspartato aminotransferase (AST ou TGO), alanina aminotransferase (ALT ou TGP), creatinina, uréia, colesterol total, triglicerídeos (LabTest®). Utilizou-se o BioPlus 2000®.

Análise estatística

Os grupos experimentais foram comparados aos controles com DP e sem DP, utilizando-se o Teste t de Student com nível de significância de 5% no programa Graf Pad Install. Os valores foram expressos como média (M) e desvio padrão (DP).

RESULTADOS

Resultados bioquímicos para os grupos experimentais dos ratos Wistar do gênero masculino realizados por este estudo estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar, com e sem doença periodontal tratados com salina. Valores expressos em média + desvio padrão e valor de p. (n) – número de animais. Natal, RN 2013.

Parâmetros (unid.)	SALINA SEM DOENÇA PERIODONTAL (n=5)	SALINA COM DOENÇA PERIODONTAL (n=5)	p Valor
Glicose (mg/dL)	122.1 ± 24.4	188.8 ± 185.4	0.00*
HDL (mg/dL)	40.4 ± 4.6	30.2 ± 11.3	0.09
LDL (mg/dL)	5.5 ± 25.2	27.1 ± 24.3	0.03*
Colesterol Total (mg/dL)	60.5 ± 7.7	68.2 ± 61.6	0.05*
TGO/AST(U/L)	123.2 ± 25.2	181.8 ± 111.1	0.3
TGP/ALT (U/L)	56 ± 11.4	65.6 ± 15.7	0.3
UREIA	41.4 ± 7.0	42.2 ± 8.3	0.9

Nas tabelas 2, 3 e 4, podem ser vistos os diferentes grupos experimentais com doença periodontal, e tratados com olmesartana, captopril e atorvastatina, respectivamente.

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar, com doença periodontal e tratados com olmesartana (1mg/kg e 10 mg/kg) . Valores expressos em média + desvio padrão e valor de p. (n) – número de animais. Natal,RN 2013.

Parâmetros (unid.)	OLMESARTANA					
	1mg/Kg (n=5)			10mg/Kg (n=6)		
Glicose (mg/dL)	185.4	± 18.4	p=0.8	107.7	± 46.2	p=0.00*
HDL (mg/dL)	34.3	± 10.2	p=0.6	41	± 8.1	p=0.1
LDL (mg/dL)	24.3	± 7.9	p=0.8	16.2	± 4.3	p=0.2
Colesterol Total (mg/dL)	61.6	± 8.5	p=0.4	60.5	± 7.7	p=0.3
TGO/AST(U/L)	96	± 15.4	p=0.1	4.5	± 12.9	p=0.05
TGP / ALT (U/L)	54	± 4.5	p=0.1	82.5	± 29.5	p=0.06
UREIA	35	± 4	P=0.1	41.5	± 3.7	P=0.86

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar, com doença periodontal e tratados com Captopril (1mg/kg, 5 mg/Kg e 10 mg/kg) . Valores expressos em média + desvio padrão e valor de p. (n) – número de animais. Natal,RN 2013.

Parâmetros (unid.)	CAPTOPRIL								
	1mg/Kg (n=4)		5mg/Kg (n=5)		10mg/Kg (n=6)				
Glicose (mg/dL)	135.3	± 34.0	p=0.0142*	71.4	± 36.9	p=0.0002*	125.3	± 19.9	p=0.0002*
HDL (mg/dL)	31.1	± 13.7	p=0.9	42.8	± 7.9	p=0.08	46	± 16.5	p=0.11
LDL (mg/dL)	24.8	± 5.4	p=0.8146	21.2	± 12.4	0.5704	11.0	± 5.7	p=0.14
Colesterol Total (mg/dL)	68.0	± 8.9	p=0.9813	73.2	± 13.9	p=0.5916	72.8	± 18.5	p=0.70
TGO/AST(U/L)	110.3	± 21.2	p=0.15	195.8	± 104.7	p=0.84	86.8	± 30.0	p=0.00*
TGP / ALT (U/L)	40.5	± 7.1	p=0.02*	52.2	± 29.9	p=0.4	50.8	± 18.6	p=0.2
UREIA	40.5	± 7.1	P=0.7	50.2	± 3.0	P=0.84	86.8	± 30.0	p=0.07

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar, com doença periodontal e tratados com Atorvastatina (1mg/kg, 5mg/kg e 10 mg/kg) . Valores expressos em média + desvio padrão e valor de p. (n) – número de animais. Natal,RN 2013.

Parâmetros (unid.)	ATORVASTATINA								
	1mg/Kg (n=4)		5mg/Kg (n=5)		10mg/Kg (n=6)				
Glicose (mg/dL)	164.0	± 55.4	p=0.4	191.0	± 38.8	p=0.9	186.60	± 45.3	p=0.9
HDL (mg/dL)	30.6	± 8.0	p=0.9	30.6	± 8.0	p=0.9	30.8	± 4.6	p=0.9
LDL (mg/dL)	15.6	± 3.8	p=0.2	19.0	± 1.7	p=0.4	19.0	± 1.7	p=0.4
Colesterol Total (mg/dL)	53.2	± 12.4	p=0.1	69.6	± 13.2	p=0.9	56.800	± 6.2	p=0.1
TGO/AST(U/L)	151.6	± 44.5	p=0.6	240.6	± 97.4	p=0.4	182.8	± 22.0	p=0.9
TGP / ALT (U/L)	72.4	± 12.5	p=0.5	73.6	± 23.1	p=0.5	58.7	± 23.9	p=0.6
UREIA	49.2	± 4.1	P=0.1	50	± 10.3	P=0.2	56.6	± 9.1	p=0.03*

DISCUSSÃO

Nos últimos dez anos, vários estudos epidemiológicos avaliaram a associação entre infecção oral e doenças sistêmicas (2, 7-9). Estes estudos têm apoiado que infecções orais, especificamente a periodontite, pode conferir riscos independentes para diferentes condições sistêmicas tais como: osteoporose, mortalidade, diabetes mellitus, infecções pulmonares, pré-termo de baixo peso ao nascer, doenças cardiovasculares e infecções em outros locais do corpo.

A doença periodontal está diretamente envolvida na etiopatogenia da Doença Cardio-vascular, tanto devido as bactérias orais, quanto devido a resposta do hospedeiro, que libera citocinas e outros mediadores pró-inflamatório, como fator de necrose tumoral (TNF- α) que pode iniciar uma cascata de reações bioquímicas e dano endotelial facilitando a fixação de placas de colesterol (9-11).

No presente estudo um dado bastante interessante e que merece destaque foram as alterações bioquímicas encontradas em animais com doença periodontal, e que estavam nas mesmas condições de dieta e ambiental, quando comparado com o grupo de animais sem doença periodontal. Foram verificados significantes aumento nos níveis de LDL-C e colesterol total, levando a uma possível implicação da doença periodontal como fator de risco para estas alterações bioquímicas.

Um outro achado interessante para o estudo foi de que o medicamento deslipimiente Atorvastatin, em todas as doses utilizadas, não apresentou um significativo redução nos níveis de colesterol total e LDL-C, bem como aumento nos níveis de HDL-C. Embora estudos, tais como o de Awartani & Atassi (2010), tenha chamado atenção para a hiperlipidemias influenciando na gravidade da doença periodontal (12, 13). Nosso estudo chama atenção para o estado de doença periodontal como uma condição local influenciando numa resposta sistêmica aos medicamentos utilizados como, tais como os deslipimiantes.

Ainda no nosso estudo houve significativa aumento nos níveis de glicemia em animais portadores de doença periodontal. O estudo de Marigo et al. (2011) demonstrou a acumulação de glicose no fluido crevicular, em bolsas periodontal com uma profundidade > 4 mm, provocando um aumento de espiroquetas e bactérias, aumentando os níveis de interleucina-1 beta (IL-1 beta) e Factor de Necrose Tumoral (TNF). Por sua vez no que diz respeito a alteração vascular, o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) pode desempenhar um papel importante na isquemia dos tecidos, angiogênese e a alteração do nível de glicose hemática (14).

Contrário aos achados anteriores onde a doença periodontal parece influenciar na resposta ao atorvastatin, os animais tratados com olmesartana (10mg/Kg) e captopril (todas as doses), apresentaram significativa redução nos níveis de glicose. O estudo observou que o captopril diante de altas concentrações

de glicose induz alterações nas células LLC-Pk1, aumentando a expressão do RNAm transportador de glicose I e II renal(15). Em relação a olmesartan, um estudo concluiu ao compara-la com a telmisartana, que este último apresentava melhor resultado no controle da pressão arterial no início da manhã, bem como para a melhoria da glicose e do perfil lipídico em pacientes com hipertensão, insuficiência cardíaca crônica e síndrome metabólica(16).

Um dado sobre a importância do controle mecânico (raspagem e alisamento corono-radicular) da infecção para periodontite e a cirurgia periodontal foi relatado por Korman (2008), quando verificou a influencia destas intervenções acima mencionadas sobre a glicemia, lipídeos e marcadores de inflamação sistêmica. Os resultados não foram significativamente alterado após 3 meses, somente após um ano é que pode-se constatar aumento nas concentrações de HDL-C, e redução nos níveis de LDL-C (17).

CONCLUSÃO

Assim conclui-se para que a doença periodontal pode levar a aumento a alterações nos níveis de glicemia, LDL-C e colesterol total. Ainda a doença periodontal pode ser uma condição agravante que merece cuidado pois pode influenciar nos resultados da terapia medicamentosa, principalmente, como observado em relação ao uso das estatinas (atorvastatina).

REFERÊNCIAS

1. NANJI, Antonio; BOSSHARDT, Dieter D. Structure of periodontal tissues in health and disease. **Periodontol.** 2000, Copenhagen, v. 40, n.1, p. 11-28, 2006.
2. DEMMER, RT. et al. The Influence of Type 1 and Type 2 Diabetes on Periodontal Disease Progression: Prospective results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). **Diabetes Care**, Alexandria, v.35, n.10, p. 2036-2042, 2012.
3. RAJHANS, NS. et al. A clinical study of the relationship between diabetes mellitus and periodontal disease. **J. Indian Soc. Periodontol.**, Mumbai. v. 15, n.4, p.388-392, 2011.
4. TELES, Ricardo; WANG, CY. Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease. **Oral Dis.**, Houndmills, v. 17, n.5, p.450-461, 2011.
5. BANIHASHEMRAD, SA; MOEINTAGHAVI, A; RAFIGHDOOST, A. Relationship between cholesterol and triglyceride blood values and periodontal parameters in patients of Mashhad health center. **N. Y. State Dent. J.**, New York, v. 74, n. 5, p. 65-66, 2008.
6. MACHADO, ACP. et al. Relation between chronic periodontal disease and plasmatic levels of triglycerides, total cholesterol and fractions. **Braz. Oral Res.**, Sao Paulo, v. 19, n. 4, p. 284-9, 2005.
7. RENVERT, S. Destructive periodontal disease in relation to diabetes mellitus, cardiovascular diseases, osteoporosis and respiratory diseases. **Oral Health Prev. Dent.**, New Malden, v. 1 Suppl 1, p. 341-57, 2003.
8. GENSINI, GF. et al. Diabetic disease and periodontal disease. Diabetes and periodontopathy]. **Minerva Stomatol.**, Torino, v.41, n.9, p. 391-399, 1992.

9. WANG, Pao Li. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases--from molecular mechanisms to clinical cases: Treatment of periodontal disease regarded as biofilm infection: systemic administration of azithromycin. **J. Pharmacol. Sci.**, Tokyo, v. 113, n. 2, p.126-33, 2010.
10. MEURMAN, JH; SANZ, M; JANKET, SJ. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, Boca Raton, v.15, n.6, p. 403-413, 2004.
11. STEIN, SH. et al. Periodontal and cardiovascular diseases: common inflammatory mediators. **J. Tenn. Dent. Assoc.**, Nashville, v. 89, n.2, p.6-10, 2009.
12. AWARTANI, F; ATASSI, F. Evaluation of periodontal status in subjects with hyperlipidemia. **J. Contemp. Dent. Pract.** v.11, n. 2, p. 33-40, 2010.
13. SANGWAN, A. et al. Periodontal Status and Hyperlipidemia: Statin Users vs. Non-Users. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 84, n.1, p. 3-12, 2012.
14. MARIGO, L. et al. Diabetes mellitus: biochemical, histological and microbiological aspects in periodontal disease. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, Roma, v. 15, n.7, p. 751-8, 2011.
15. YANG, ML. et al. Captopril reverses high glucose-induced effects on LLC-PK1 cells partly by enhancing facilitative glucose transporter messenger RNA expressions. **Biochem Mol Biol Int.**, Sidney, v. 41, n.3, p. 511-9, 1997.
16. SASAKI, T. et al. Comparison of the effects of telmisartan and olmesartan on home blood pressure, glucose, and lipid profiles in patients with hypertension, chronic heart failure, and metabolic syndrome. **Hypertens. Res.**, Toyonaka, v.31, n.5, p. 921-9, 2008.
17. KORNMAN, Kenneth S. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v. 79, n.8, Suppl, p. 1560-8, 2008.

Recebido em 22.10.2012;

Aceito em 02.04.2013.