

Eficácia de um gel de Quitosano Mucoadesivo contendo Doxiciclina associada ou não ao Meloxicam como coadjuvante ao tratamento da gengivite em cães portadores de doença periodontal*

Rita de Cassia da Costa Silva¹, Diefrey Ribeiro Campos², Patrícia de Oliveira³, Anaís Gabriela Villarreal Laguna⁴, Viviane de Souza Magalhães⁵, Yara Peluso Cid⁶, Milton Begeres de Almeida⁷, Fabio Barbour Scott⁸ e Júlio Israel Fernandes^{9*}

ABSTRACT. Silva R.C.C., Campos D. R., Oliveira P., Laguna A.G.V., Magalhães V.S., Cid Y.P., Almeida M.B., Scott F.B. & Fernandes J.I. [Efficacy of Chitosan gel mucoadhesive containing Doxycycline associated or not to Meloxicam as adjuvant to treatment of gingivitis in dogs with periodontal disease.] Eficácia de um gel de Quitosano Mucoadesivo contendo Doxiciclina associada ou não ao Meloxicam como coadjuvante ao tratamento da gengivite em cães portadores de doença periodontal. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):40-44, 2016. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000, Brasil. E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

Periodontal disease is the highest occurrence condition in the pet clinic, affecting mainly older animals because of its characteristic of chronicity. Among the clinical signs observed in afflicted animals, gingivitis is the first to be observed. The goal of this study was to develop a mucoadhesive gel, containing doxycycline and meloxicam, and evaluate its efficacy as an adjuvant in the treatment of gingivitis induced by periodontal disease, with a clinical and histopathological rating. Eighteen Beagle dogs presenting gingivitis secondary to periodontal disease were divided into three experimental groups. Group I - animals treated with placebo formulation. Group II - Animals treated with a chitosan gel formulation containing doxycycline. Group III - Animals treated with a chitosan gel formulation containing doxycycline and meloxicam. All animals were treated for seven days, every twelve hours, in the gingival margin of the right maxilla. During the clinic evaluation, only the animals treated with the product containing doxycycli-

*Recebido em 12 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 10 de outubro de 2016.

¹ Médica-veterinária, Msc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Veterinária (IV), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: cassiavetodonto@oi.com.br

² Médico-veterinário, Msc, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: diefrey8@hotmail.com

³ Graduanda, Curso de Medicina Veterinária, UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: patricia.rjvet@yahoo.com.br - bolsista (CNPq/UFRRJ).

⁴ Médica-veterinária, PPGMV, UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: avillalag14@gmail.com

⁵ Farmacêutica, Dsc, Msc, Departamento de Parasitologia Animal, UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: vsmagalhaes@gmail.com

⁶ Farmacêutica, Dsc, Msc, Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFRRJ, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: yaracid@yahoo.com.br

⁷ Médico-veterinário, Dsc Msc, Instituto de Veterinária, Universidade Federal do Pará, Avenida Universitária, s/n, Pirapora, Castanhal, PA 68750-000. E-mail: begeres@yahoo.com.br

⁸ Médico-veterinário, Dsc, Msc, Laboratório de Quimioterapia Experimental e Parasitologia Veterinária (LQEPV), UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: scott@ufrj.br

⁹ Médico-veterinário, Dsc, Msc, Laboratório de Quimioterapia Experimental e Parasitologia Veterinária (LQEPV), UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000, *Autor para correspondência, E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

ne had improved. Contrasting, in the histopathologic evaluation, only animals treated with association of doxycycline and meloxicam presented improvements in their clinical score, although no statistic significance was observed between the groups. The developed formulations were not effective as adjuvants in the treatment of gingivitis induced by periodontal disease treatment.

KEY WORDS. Gingivitis, periodontal disease, mucoadhesive gels, buccal cavity.

RESUMO. A doença periodontal é a doença de maior ocorrência na clínica de animais de companhia, acometendo principalmente animais idosos, dada a sua característica de cronicidade. Dentre os sinais clínicos nos animais acometidos, a gengivite é um dos primeiros a serem observados. O objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar a eficácia de um gel mucoadesivo, contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam como adjuvante ao tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal através de avaliação clínica e histopatológica. Foram utilizados 18 cães da raça Beagle portadores de gengivite secundária à doença periodontal divididos em três grupos experimentais: Grupo I- Animais medicados com formulação placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina e grupo III - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina e meloxicam. Os animais foram tratados durante sete dias, a cada doze horas, na margem gengival da maxila direita. Durante a avaliação clínica, apenas os animais tratados com o produto contendo doxiciclina apresentaram melhora. Já na avaliação histopatológica, somente os animais tratados com a associação de doxiciclina e meloxicam apresentaram melhora nos escores clínicos, entretanto, sem diferença significativa com os demais grupos. As formulações desenvolvidas não foram eficazes como coadjuvantes no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

PALAVRAS-CHAVE. Gengivite, doença periodontal, gel mucoadesivo, cavidade oral.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal tem por característica sua cronicidade, sendo observada em 80% dos cães acima de três anos. Apesar de alguns animais serem assintomáticos, em estágios avançados costumam apresentar sinais clínicos de dor, alteração no comportamento, halitose, disfagia, mobilidade dentária e retração de gengiva (Riggio et al. 2011).

A gengivite é a primeira manifestação clínica da doença periodontal. É formada uma semana após a instalação da placa bacteriana e é caracterizada

por uma linha avermelhada ao longo da margem gengival (Gorrel 2004). A gengivite pode ser classificada em inicial, precoce, estabelecida e avançada. Quando não tratada pode evoluir para periodontite (Lindhe et al. 2010).

Permanecendo a injúria ao tecido, a doença progride, levando a doença periodontal, que é caracterizada principalmente pelos seguintes sinais clínicos: halitose, presença de cálculos dentários, mobilidade dentária e exposição de furca (Gorrel 2004, Gioso 2007), podendo desenvolver nos animais acometidos complicações locais: periodontite e fistula oronasal; e sistêmicas: insuficiência renal crônica, hepatite, endocardite bacteriana, pneumonia, hiperlipidemia, diabetes mellitus e osteoporose (Moutsopoulos & Madianos 2006, Brook & Niemiec 2008, Braga et al. 2009, Fisher & Taylor 2009).

O diagnóstico da doença periodontal é realizado a partir do exame clínico e de radiografias da cavidade oral. Durante o exame clínico é possível observar a presença de halitose, classificar o grau de gengivite, extensão dos cálculos dentários, detectar mobilidade dentária. O exame radiográfico permite observar o acometimento das estruturas dentárias e lesões adjacentes (Gorrel 2004, Gioso 2007).

O tratamento definitivo consiste em raspagem dos elementos dentários, removendo o biofilme e placa bacteriana das superfícies do dente, o que requerer uso de anestesia geral inalatória. Alguns animais, podem não estar aptos ao procedimento por apresentarem doenças concomitantes como: cardiopatias, nefropatias ou hepatopatias. Nestes casos, é necessário a estabilização do paciente primeiramente antes de o submeter ao procedimento anestésico e terapia definitiva (Ishikawa & Baehni 2004).

Durante esse período de estabilização, animais que apresentem sinais clínicos graves devem ser tratados para melhor qualidade de vida. Uma alternativa terapêutica é a administração de antibióticos sistêmicos que muitas vezes não atingem concentrações terapêuticas e, se utilizados a longo prazo, induzir a resistência bacteriana (Rams & Slots 1996, Ishikawa & Baehni 2004).

O uso de anti-inflamatórios sistêmicos pode ajudar a reduzir os sinais de inflamação como o edema gengival e retirar a dor do animal, ocasionando conforto durante o período de estabilização. Contudo, seu uso constante pode induzir ou agravar animais com doença renal crônica a lesão renal e úlcera gástrica (Batlouni 2010). O meloxicam é um anti-inflamatório não esteroideal seletivo para COX-2 que possui causa menor lesão aos rins e ao epitélio gástrico (Bellows 2004).

Os antibióticos locais permitem atingir altas concentrações no local de sua administração, o que não ocorre com os de uso sistêmico. Também não estão relacionados a efeitos adversos, sobretudo no trato gastrointestinal, reduzindo o risco de desenvolvimento de resistência a drogas pelas populações bacterianas existentes (Rams & Slots 1996).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar um gel mucoadesivo, contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam como adjuvante ao tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob o número 8076310815.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado no Município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. As avaliações histopatológicas foram realizadas no laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Pará.

Foram selecionados 18 cães da raça Beagle, portadores de gengivite desencadeados por doença periodontal, classificados em gengivite estabelecida ou avançada.

Os animais foram divididos em três grupos experimentais contendo seis animais por grupo, sendo assim distribuídos: Grupo I - Animais medicados com placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina 15mg/ml e grupo III - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina 15mg/ml e meloxicam 2,5mg/mL. As formulações de gel de quitosano mucoadesivo foram desenvolvidas seguindo a metodologia descrita por Cid et al. (2012) e os fármacos doxiciclina e meloxicam foram incorporados à formulação nas concentrações descritas acima. Todos os animais foram tratados a cada 12 horas durante o período de sete dias, com dois centímetros do gel, na margem gengival, apenas na maxila direita dos animais.

Durante todo o período do estudo todos os animais foram examinados clinicamente para observar possíveis alterações desencadeadas pelo tratamento clínico.

Para a realização do exame da cavidade oral e coleta do fragmento de gengiva para biopsia, os animais foram submetidos ao protocolo anestésico com 5 mg/kg de cetamina associado a 0,5 mg/kg de diazepam administrados por via intravenosa.

No dia 0, dia inicial do tratamento, foi realizada a avaliação clínica da cavidade oral. Em seguida, foi coletado um fragmento da gengiva livre, de aproximadamente 0,5 cm, na face rostral do elemento dentário 108. Após a coleta o material foi fixado em formol 10% e enviado para o exame histopatológico. No dia +8, fim do tratamento, os mesmos procedimentos foram realizados, contudo, a nova coleta de fragmento de gengiva livre foi realizada caudal ao mesmo elemento dentário.

A classificação de gengivite clínica adotada no estudo foi a proposta por Lindhe et al. (2010): 0 - Gengiva clinicamente saudável; 1 (gengivite precoce) - Edema, vermelhidão, sangramento tardio à sondagem; 2 (gengivite estabelecida) - Edema, vermelhidão, hiperplasia (pseudo bolsa), sangramento imediato à sondagem; 3 (gengivite avançada) - Edema, vermelhidão, perda de inserção, bolsa periodontal e retração gengival, tecido de granulação e sangramento espontâneo da gengiva.

Já para o acompanhamento do infiltrado inflamatório na avaliação histológica, a classificação utilizada foi adaptada de Garros et al. (2006): 0 - Ausência de infiltrado; 1 - Infiltrado discreto e localizado (focal); 2 - Infiltrado discreto, difuso; 3 - Infiltrado moderado; 4 - Infiltrado intenso.

A análise estatística dos dados foi realizada pelo programa Bioestat versão 5.3 utilizando nível de significância de 5%. A determinação da normalidade dos dados foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilks e análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Student-Newtman-Keuls.

RESULTADOS

Todos os animais foram acompanhados durante o período experimental e não foram observados quaisquer efeitos adversos decorrentes do uso das formulações em teste.

As avaliações clínicas dos animais antes e após o tratamento nos diferentes grupos experimentais foram realizadas, registradas e arquivadas através de fotografia digital. A avaliação clínica realizada em todos os animais, por grupo experimental, nos dias 0 e + 8, por escore, está descrita na Tabela 1. No dia 0 as médias dos escores nos grupos I, II e III foram 1,8, 2,5 e 1,6 respectivamente. Enquanto no dia +8 os valores médios dos escores foram 1,8, 1,5 e 2,0 nos grupos I, II e III respectivamente. Foi observado que apenas o grupo II apresentou redução nos escores quando comparadas as avaliações pré e pós-tratamento.

No que diz respeito a avaliação histopatológica, as médias dos escores no dia 0 nos grupos I, II e III foram 1,0, 2,0 e 1,0 respectivamente, enquanto

Tabela 1. Resultado das avaliações clínicas em escores dos grupos I, II e III no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

Animal	Grupo I		Grupo II			Grupo III		
	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	2	2	104667	2	1	2810611	2	2
393776	2	2	279594	2	1	419834	2	2
459394	2	2	278555	3	2	44319	1	2
604238	1	1	590494	3	2	257673	2	2
604755	2	2	291310	3	2	416929	2	2
298497	2	2	44210	2	1	421754	1	2
Média	1,8	1,8		2,5a	1,5b		1,6	2,0
Valor p	1		0,0108		0,3669			

Nota: Grupo I- Animais medicados com formulação placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano

Tabela 2. Resultado das avaliações histológicas em escores dos grupos I, II e III no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

Animal	Grupo I		Grupo II			Grupo III		
	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	0	4	104667	1	3	028106	1	1
393776	1	0	279594	4	2	419834	0	1
459394	0	2	278555	2	*	44319	3	1
604238	2	1	590494	2	4	257673	0	0
604755	1	3	291310	2	4	416929	1	1
298497	2	3	44210	1	3	421754	1	1
Média	1,0	2,2		2,0	2,7		1,0	0,8
Valor p	0,1431		0,2841		0,070			

Nota: Grupo I- Animais medicados com formulação placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina 15 mg/ml e grupo III - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina 15 mg/ml e meloxicam 2,5mg/ml. Teste de Kruskal Wallis seguido do teste Student-Newtman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença significativa.

no dia +8 foram 2,2, 2,7 e 0,8 respectivamente. Nos grupos I e II ocorreu aumento dos escores na avaliação histopatológica. Enquanto o grupo III houve uma redução nos escores, contudo, não foi observada diferença estatística destes resultados, conforme ilustrado na Tabela 2.

DISCUSSÃO

A gengivite é um dos primeiros sinais clínicos a serem identificados em animais portadores de doença periodontal, doença de caráter crônico. O tratamento definitivo da doença e, por conseguinte, a gengivite consiste em realizar a raspagem dos dentes, removendo a presença de cálculos dentários supra e subgingivais. Para isso, esses pacientes devem sempre ser submetidos à anestesia inalatória.

Diariamente são atendidos animais nas clínicas veterinárias animais portadores de doença periodontal, invariavelmente animais senis, em virtude do caráter crônico da doença. Até a realização de todos os exames pré-operatórios ou, a estabilização clínica do animal, que pode chegar com cardiopatia ou nefropatia concomitante à doença periodontal,

leva-se muito tempo. Diante desse cenário, foi desenvolvido uma nova formulação, um gel mucoadesivo, com o intuito de proporcionar um alívio temporário em um dos principais sinais clínicos da doença periodontal, a gengivite, até que possa ser realizado o procedimento definitivo, ou seja, um tratamento paliativo para a gengivite.

Trata-se do primeiro relato da utilização em animais de companhia do gel de quitosano acrescido de antibiótico (doxiciclina) e anti-inflamatório (meloxicam). Cid et al. (2012) utilizaram uma formulação de quitosano mucoadesiva contendo o anti-inflamatório celecoxib, entretanto, o intuito estava relacionado à quimioprevenção de neoplasias em cavidade oral em pacientes humanos. A formulação foi caracterizada como um sistema de liberação controlada e com potencial para uso terapêutico na quimioprevenção do câncer oral. No estudo apresentado foi utilizado outro anti-inflamatório, o meloxicam, mais barato, seguro e amplamente utilizado nos animais de companhia.

O uso de anti-inflamatórios não esteroidais sistêmicos é indicado para o controle do processo

inflamatório e ajuda a retardar a progressão da doença (Colmery 1983). Contudo, neste trabalho, quando utilizado de forma tópica o meloxicam não apresentou eficácia para evitar a progressão da gengivite.

Bactérias são consideradas agentes etiológico primário da doença periodontal e a progressão desta enfermidade é devido a ação do sistema imunológico do hospedeiro que promove uma destruição tecidual exacerbada (Slots & Rams 1990, Haffajee & Socransky 2000). Polson et al. (1996) demonstraram que o gel muco adesivo contendo doxiciclina apresentou bons resultados evitando a progressão da doença periodontal, resultado semelhante ao obtido neste trabalho.

Akalin et al. (2004) mostraram em seu trabalho que a doxiciclina pode ser utilizada tanto de forma sistêmica quanto local como tratamento adjuvante da doença periodontal, melhorando o prognóstico de pacientes depois de submetidos ao tratamento definitivo. Da mesma forma Zetner & Rothmueller (2001) mostraram que a doxiciclina pode ser utilizada como auxiliar para o tratamento da doença periodontal em cães da raça Beagle, porém os autores utilizaram por seis a doze semanas, com metodologia diferente do empregado no estudo, uma vez que foi implantado no sulco gengival a medicação. Há relatos da utilização da doxiciclina oral através de comprimidos, mas alguns animais manifestaram sinais clínicos compatíveis com gastrite, o que pode levar à interrupção do tratamento.

Apesar da aparente melhora clínica observada nos animais submetidos ao tratamento com a formulação contendo doxiciclina e na melhora na inflamação, dos animais submetidos ao tratamento com a formulação contendo a associação de doxiciclina e meloxicam, observado através de avaliação histológica não foi possível identificar melhora nos animais medicados antes e após o tratamento.

Por ser o primeiro relato da utilização desse protocolo, possíveis explicações para a não eficácia das formulações são apenas hipóteses, tais como: concentração do produto, intervalo entre as aplicações e até mesmo maior tempo de tratamento. Entretanto, o custo do medicamento por longo período seria um fator limitador. A escolha da doxiciclina foi realizada a partir de trabalhos humanos, mas outras opções de antibiótico e até mesmo anti-inflamatório não devem ser descartadas. Novos estudos

devem ser realizados buscando alternativas até o momento do procedimento clínico-cirúrgico.

CONCLUSÃO

As formulações desenvolvidas contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam não foram eficazes como coadjuvantes no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

REFERÊNCIAS

- Batlouni M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, 94:556-63, 2010.
- Braga S., Braga D. & Soares S. Diabetes mellitus e periodontite - um caso de saúde oral. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 50:111-117, 2009.
- Brook A. & Niemiec D.V.M. Periodontal disease - topical review. *Topics in Companion Animal Medicine*, 23:72-80, 2008.
- Cid Y.P., Pedrazzi V., Sousa V.P. & Pierre M.B.R. In Vitro Characterization of Chitosan Gels for Buccal Delivery of Celecoxib: Influence of a Penetration Enhancer. *AAPS PharmSciTech*, 1:1-11, 2012.
- Colmery B.H. Profilaxia e cirurgia dental, p.126-138. In: Bojrab M.J. (Ed.), *Cirurgia de pequenos animais*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro, 1983.
- Fisher M.A. & Taylor G.W. A prediction model for chronic kidney disease includes periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 1:16-23, 2009.
- Garros I.D.C., Campos A.C.L., Tâmbara E.M., Tenório S.B., Torres O.J.M., Agulham M.A. & Arruda E.C.D.M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 21:55-65, 2006.
- Gioso M.A. *Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais*. 2ª ed. Manole, São Paulo, 2007. 86p.
- Correl C. *Veterinary dentistry for the general practitioner*. W.B. Saunders, Philadelphia, 2004. 224p.
- Haffajee A.D. & Socransky S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontology*, 5:78-111, 2000.
- Lindhe J., Karring T. & Lang N.P. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral*. 5ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2010. 1048p.
- Loss B.G., Craandijk J., Hoek F.J., Dillen P.M.W. & Velden U.V.D. Evaluation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the 38 peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of Periodontology*, 71:1528-1534, 2000.
- Moutsopoulos N.M. & Madianos P.N. Low grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1088:251-264, 2006.
- Nassar C.A., Nassar P.O., Inagaki N.S. & Girelli Jr C. Efeito de Anti-inflamatório no Desenvolvimento da Doença Periodontal Induzida. Avaliação Radiográfica em Ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*, 32:125-130, 2003.
- Polson A.M., Southard G.L., Dunn R.L., Yewey G.L., Godowski K.C., Polson A.P. & Laster L. Periodontal pocket treatment in beagle dogs using subgingival doxycycline from a biodegradable system. I. Initial clinical responses. *Journal of Periodontology*, 67:1176-1184, 1996.
- Riggio M.P., Lennon A., Taylor D.J. & Bennet D. Molecular identification of bacteria associated with canine periodontal disease. *Veterinary Microbiology*, 150:394-400, 2011.
- Slots J. & Rams T.E. Antibiotics in periodontal therapy, advantages and disadvantages. *Journal of Clinical Periodontology*, 17:479-493, 1990
- Zetner K. & Rothmueller G. Treatment of periodontal pockets with doxycycline in beagles. *Veterinary Theriogenology*, 3:441-452, 2001.