

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE- INTERDISCIPLINAR
INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL, PRÉ-CLÍNICA E CLÍNICA DE DOENÇAS**

GISELLE ARIANA OTTO MACKEVICZ

**INFLUÊNCIA DO IBUPROFENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E
TECIDUAL DA AMOXICILINA EM RATOS COM LESÃO PÉRIAPICAL INDUZIDA**

**PONTA GROSSA
2018**

GISELLE ARIANA OTTO MACKEVICZ

**INFLUÊNCIA DO IBUPROFENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E
TECIDUAL DA AMOXICILINA EM RATOS COM LESÃO PERIAPICAL INDUZIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), na Linha de Pesquisa: Investigação Laboratorial, Pré-Clínica e Clínica de Doenças, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof. Dr. Márcia Thaís Pochapski

**PONTA GROSSA
2018**

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

M154 Mackeivicz, Giselle Ariana Otto
Influência do ibuprofeno sobre a
concentração plasmática e tecidual da
amoxicilina em ratos com lesão periapical
induzida/ Giselle Ariana Otto Mackeivicz.
Ponta Grossa, 2018.
42f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da
Saúde - Área de Concentração: Atenção
Interdisciplinar em Saúde), Universidade
Estadual de Ponta Grossa.
Orientadora: Prof^a Dr^a Márcia Thaís
Pochapski.

1.Antibiótico. 2.Amoxicilina.
3.Anti-inflamatório. 4.Ibuprofeno.
5.Tecido periapical. I.Pochapski, Márcia
Thaís. II. Universidade Estadual de Ponta
Grossa. Mestrado em Ciências da Saúde.
III. T.

CDD: 615.329

GISELLE ARIANA OTTO MACKEVICZ

INFLUÊNCIA DO IBUPROFENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E
TECIDUAL DA AMOXICILINA EM RATOS COM LESÃO PERIAPICAL INDUZIDA

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual
de Ponta Grossa, Área de Ciências da Saúde – Interdisciplinar.

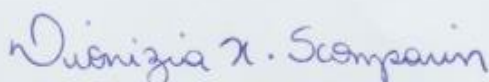
Ponta Grossa, 26 de março de 2018.



Dra. Márcia Thais Pochapski – Orientadora
Doutora em Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Dra. Lea Rosa Chioca Ferro
Doutora em Farmacologia
Faculdades Ponta Grossa



Dra. Dionizia Xavier Scomparin
Doutora em Biologia Celular
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Dedico ao meu esposo Osmar
Mackevicz, aos meus pais Augusto e
Nazir, à minha irmã Daniele e meu
cunhado Willian e à toda comunidade
acadêmica.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e pela sabedoria para concluir esta etapa.

À minha querida orientadora Prof^a. Dra. Márcia Thaís Pochapski, pela confiança em mim depositada, pela amizade, pelo empenho e dedicação e valiosas contribuições nesta pesquisa.

Ao meu querido esposo Osmar Mackeivicz por todo carinho, compreensão e incentivo.

Aos meus pais Augusto e Nazir por me incentivarem e apoiarem.

À minha irmã Daniele e meu cunhado William pela partilha de vida.

Aos meus sogros Geraldo e Lucir pelo carinho e compreensão.

Aos professores Dr. Luis Esmerino e Dr. Fábio André dos Santos por nos ajudarem durante esta pesquisa.

Às alunas e a todos do laboratório de Histopatologia e Cultura celular do programa de pós graduação em Odontologia que nos ajudaram durante os experimentos desta pesquisa.

À minha chefe Márcia Schimandeiro Vaccari do laboratório Laboralfa Análises Clínicas, por incentivar meu crescimento profissional e pelo esforço para que eu pudesse participar das atividades do Mestrado.

À minha colega Lisiane Cristine Lopes, do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, pelo incentivo, pelas conquistas e partilhas.

A todos que contribuíram nesta pesquisa.

“Não existe ensino sem pesquisa,
nem pesquisa sem ensino”.

(Paulo Freire)

MACKEVICZ, GISELLE. A.O. **Influência do ibuprofeno sobre a concentração plasmática e tecidual da amoxicilina em ratos com lesão periapical induzida.** 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

RESUMO

A prescrição de anti-inflamatórios e antibióticos é uma prática comum na Odontologia. Interações medicamentosas podem ocorrer quando diferentes fármacos são administrados ao mesmo tempo. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a influência do ibuprofeno, sobre a concentração da amoxicilina no plasma e no tecido periapical de ratos com periodontite apical induzida. Foram utilizados 28 ratos Wistar, machos, com 45 dias, divididos em 4 grupos: PL: placebo (salina); AM: amoxicilina (100 mg/kg); IB: ibuprofeno (100 mg/kg); e AM+IB: amoxicilina (100 mg/kg) + ibuprofeno (100 mg/kg). Os animais foram submetidos à exposição pulpar do primeiro molar inferior esquerdo que permaneceu aberto por 15 dias e, então, fechado com resina composta, permanecendo por mais 07 dias. Os animais foram tratados com dose única dos medicamentos (gavagem) conforme o grupo ao qual pertenciam, 01 hora antes da eutanásia. Foram coletados 2 mL de sangue da artéria aorta para a obtenção do plasma sanguíneo e amostras do tecido periapical que foram homogeneizadas para a obtenção do sobrenadante. A partir das amostras (plasma e sobrenadante do tecido periapical) realizou-se o antibiograma para análise da concentração plasmática e tecidual de amoxicilina. Os resultados mostraram no plasma do grupo AM maiores concentrações da droga que os demais grupos ($p < 0,05$, ANOVA com Tukey). O ibuprofeno interferiu na concentração plasmática de amoxicilina, no entanto, a concentração de amoxicilina no grupo AM+IB foi maior que nos grupos PL e IB ($p < 0,05$, ANOVA com Tukey). A análise do sobrenadante do tecido periapical não mostrou diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$, Kruskal-Wallis). A partir dos resultados é possível concluir que o ibuprofeno interfere com a concentração plasmática de amoxicilina, porém não interferiu na concentração da amoxicilina no tecido periapical.

Palavras-chave: Antibiótico; Amoxicilina; Anti-inflamatório; Ibuprofeno, Tecido Periapical, Plasma; Ratos

MACKEIVICZ, GISELLE. A.O. Influence of ibuprofen on the plasma and tissue concentration of amoxicillin in rats with induced periapical lesion. 2018. Dissertation (Master Degree in Health Sciences) – State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

ABSTRACT

The prescription of anti-inflammatories and antibiotics is a common practice in dentistry. Drug interactions can occur when medicines are administered at the same time. The objective of this present research was to evaluate the influence of ibuprofen on plasma and periapical tissue amoxycillin concentration in induced apical periodontitis in rats. 28 Wistar male rats (45 days) were divided into 4 groups: PL: placebo (saline); AM: amoxycillin (100 mg / kg); IB ibuprofen (100 mg / kg); and AM+IB amoxycillin (100 mg / kg) + ibuprofen (100 mg / kg). The animals were submitted to pulp exposure in the first lower left molar, which remained open for 15 days and then closed with composite resin, maintained for more 07 days. The rats were treated with a single dose (gavage) according to each group, 01 hour before euthanasia. Two milliliters of blood was collected from the aorta to obtain blood plasma samples and the periapical tissue were homogenised to obtain the supernatant. From the samples (plasma and the supernatant periapical tissue) was carried out antibiogram for analysis of plasma and tissue amoxycillin levels. Results showed that AM group showed plasma higher amoxycillin concentrations than the other groups ($p < 0.05$, ANOVA with Tukey). Ibuprofen interferes with the amoxycillin plasma concentration, however, AM+IB group had a higher amoxycillin concentration than the PL and IB groups ($p < 0.05$, ANOVA with Tukey test). The analysis of the periapical tissue supernatant showed no significant difference among groups ($p > 0.05$, Kruskal-Wallis). In conclusion, ibuprofen can interfere with amoxycillin plasma concentration, but had no influence on amoxycillin periapical tissue concentration.

Keywords: Anti-Bacterial Agents; Amoxicillin; Anti-Inflammatory Agents; Ibuprofen; Periapical Tissue; Plasma; Rats

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1A - Hemi-mandíbula dissecada.....	27
Figura 1B- Radiografia periapical do lado controle (sem lesão periapical).....	27
Figura 1C- Radiografia periapical do lado teste (com lesão periapical).....	27
Figura 2A- Tubos contendo as amostras de tecido periapical triturado dentro de uma centrífuga.....	27
Figura 2B- Amostras sendo descongeladas em banho-maria a 37°C	27
Figura 2C- Colocação de discos de papel contendo sobrenadante de amostra tecidual nas placas com <i>S. aureus</i>	27
Figura 3- Teste de reprodutibilidade.	28
Figura 3A - Concordância entre duas medidas (radiográficas) do espaço periodontal (área radiolúcida periapical) nos 1os molares inferiores de ratos com e sem contaminação do canal radicular em diferentes momentos.....	28
Figura 3B - Concordância entre duas medidas (halo de inibição).....	28
Figura 4 – Média e desvio padrão da área radiolúcida na região periapical.....	29
Figura 5 - Curva padrão entre o halo de inibição (mm) e a concentração de amoxicilina.....	29
Figura 6 - Média e desvio padrão da concentração plasmática de amoxicilina (mg/mL) nos animais tratados.....	30
Figura 7- Média e desvio padrão da concentração tecidual de amoxicilina (mg/g) nos animais tratados.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

% - por cento

mg/L - miligrama por litro

µg/mL - micrograma por mililitro

µL - microlitro

g – grama

µg - micrograma

mg - miligrama

mg/kg - miligrama por quilograma

mm - milímetro

h - hora

mim - minuto

cm – centímetro

mL - mililitro

ATCC - American Type Culture Collection (coleção americana de culturas)

°C - grau Celsius

pH - potencial hidrogeniônico

CYP – citocromo P450

AINEs – antiinflamatórios não esteroidais

COX – cicloxigenase

r^2 – coeficiente de correlação

PEPT – peptide transporter (transportador de peptídeos)

U.F.C /mL - colony forming unit (Unidades formadoras de colônias por mililitro)

et al. - e outros

HPLC - High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

n – número de animais por grupo

rpm – rotações por minuto

PGE 2 – prostaglandina E2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 AINEs NO PROCESSO INFLAMATÓRIO.....	13
2.2 IBUPROFENO ARGININA E SEU EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO.....	15
2.3 AMOXICILINA E SEU USO NA ODONTOLOGIA.....	16
2.4 INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS RELACIONADAS À ANTIBIÓTICOS....	18
3 OBJETIVOS	21
4 METODOLOGIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS	22
4.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.2 INDUÇÃO DAS LESÕES PERIAPICAIS AGUDAS	22
4.3 ADMINISTRAÇÃO DAS MEDICAÇÕES.....	23
4.4 ORTOTANÁSIA DOS ANIMAIS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	23
4.5 ANÁLISE RADIOGRÁFICA DA FORMAÇÃO DE LESÃO PERIAPICAL	24
4.6 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E TECIDUAL DE AMOXICILINA.....	24
4.6.1 Curva Padrão.....	24
4.6.2 Antibiograma.....	25
4.6.2.1 Plasma.....	25
4.6.2.2 Tecido periapical.....	25
4.7 ANÁLISE DOS DADOS	26
5 RESULTADOS	28
6 DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37
ANEXOS	41

1 INTRODUÇÃO

A prescrição de antibióticos e de anti-inflamatórios, para o controle da infecção, da inflamação e da dor, é uma prática rotineira na clínica odontológica (Mickel *et al.*, 2006; De-Paula *et al.*, 2014; Marra *et al.*, 2016). No entanto, estudos tem demonstrado que o uso de anti-inflamatório concomitante ao uso de amoxicilina pode ser responsável por competição nas concentrações do antibiótico (Leão, 2014).

Interações medicamentosas podem ocorrer quando dois fármacos são concomitantemente administrados e podem influenciar o tempo de permanência ou eficácia no organismo. A avaliação de possíveis interações entre estes grupos de fármacos se faz necessária, uma vez que as interações podem comprometer a eficácia clínica dos mesmos (Groppo *et al.*, 2004; De Cassia Bergamaschi *et al.*, 2006; Mattos Filho *et al.*, 2006; De Velde *et al.*, 2016).

O conceito de interação medicamentosa baseia-se na resposta farmacológica ou clínica oriunda da interferência da ação de um determinado medicamento, alimento ou qualquer substância química sobre o efeito de outro medicamento, administrado previamente ou em concomitância ao primeiro (Leão, 2014).

Os agentes antimicrobianos para o tratamento de infecções odontológicas são normalmente utilizados por período de tempo maior, quando comparados aos outros fármacos utilizados na clínica odontológica, fato esse que pode contribuir para o surgimento de interações medicamentosas (De Cassia Bergamaschi *et al.*, 2006).

Como a dor pulpar e periapical envolve um processo inflamatório, a primeira escolha para o tratamento dessa sintomatologia são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (Mickel *et al.*, 2006). Os AINEs mostraram-se bastante eficazes no controle da dor de origem inflamatória e, pela propriedade de sua ligação às proteínas plasmáticas, exibem um acesso mais eficaz que outros anti-inflamatórios ao tecido inflamado (Hargreaves e Keiser, 2004; Aminoshariae *et al.*, 2016).

Poucos são os estudos sobre a interferência AINEs nas concentrações de antibióticos (Groppo *et al.*, 2004; De Cassia Bergamaschi *et al.*, 2006; Mattos Filho *et al.*, 2006). Na literatura não há nenhum estudo avaliando o efeito da

administração do ibuprofeno na concentração da amoxicilina plasmática e no tecido periapical.

Sendo a interdisciplinaridade caracterizada pela intensidade das trocas entre especialistas e pela integração das disciplinas num projeto comum, em que se estabelece uma relação de reciprocidade, por ser um tema interdisciplinar, este foi nosso objeto de estudo (Velloso, 2016).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AINEs NO PROCESSO INFLAMATÓRIO

O processo inflamatório é útil e necessário para o organismo. A inflamação é uma resposta de defesa do organismo contra diferentes agressões causadas por microorganismos, agentes físicos, químicos, necrose tecidual ou reações imunológicas. Esse processo leva à uma desnaturação de macromoléculas, queda de pH, liberação de substâncias como histamina, serotonina, cininas, prostaglandinas, enzimas proteolíticas e mucolíticos, que produzem mudanças vasculares e celulares que por ação das substâncias citadas, provocam vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e migração celular. Os sinais clínicos locais são dor, calor, rubor, edema e perda de função (SOUZA, Fernanda, 2014).

Pode ser dividido em 3 etapas: uma fase aguda, caracterizada por uma vasodilatação local e uma permeabilidade capilar aumentada; uma fase subaguda caracterizada pela infiltração de leucócitos e células fagocitárias; e uma fase crônica proliferativa em que ocorre a degeneração do tecido e fibrose. Uma lesão tissular periférica leva à liberação de mediadores químicos (ex. citocinas, histamina, bradisininas, serotonina, eicosanóides e radicais livres). Estes promovem e facilitam a transmissão dolorosa levando à hiperalgesia (Muri, 2009).

As prostaglandinas liberadas no processo inflamatório são formadas a partir do ácido araquidônico, têm sua síntese desencadeada por fosfolipídios da membrana celular lesada, através da ação da enzima fosfolipase A2. O ácido araquidônico é um ácido graxo presente na membrana celular e quando ativado pelas cicloxigenases origina as prostaglandinas, tromboxanos e prostacilinas. Quando ativado pela lipoxigenase dá origem aos leucotrienos, que são substâncias com atividade alérgica. As prostaglandinas potencializam a atividade da histamina e bradisinina. A agregação plaquetária é favorecida pela ação dos tromboxanos que são substâncias vasoconstritoras. As prostacilinas além de serem vasodilatadoras e inibirem a agregação plaquetária, elas favorecem a fibrinólise. Os leucotrienos tem grande poder alergênico, e atraem glóbulos brancos (SOUZA, Fernanda, 2014).

A classe dos AINEs inclui diversos ácidos orgânicos independentes, que compartilham propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas, sendo utilizados no tratamento da dor branda a moderada. Diminuem a formação de precursores das prostaglandinas e dos tromboxanos a partir do ácido araquidônico, diminuindo a ação destes mediadores no termostato hipotalâmico e nos receptores de dor (nociceptores). O alto grau de ligação proteica deste grupo de fármacos, pode predispor-los a interações com outras drogas que também apresentam essa mesma característica (De Cassia Bergamaschi, *et al*, 2006).

Os AINEs mostram diferentes níveis de seletividade para as isoformas COX-1 e COX-2 *in vitro* como consequência das características químicas de cada fármaco (Martínez *et al*, 2017).

Os AINEs inibem as isoenzimas da ciclooxigenase, dentre elas, pode-se destacar a ciclooxigenase 1 (COX 1) e a ciclooxigenase 2 (COX 2). A COX 1 é a forma constitutiva da COX, encontrada em plaquetas, células endoteliais vasculares, estômago e rins, estando envolvida na proteção da parede do estômago (prostaglandina E2), agregação plaquetária (tromboxano A2) e função renal (prostaglandina I2). A COX 2 é a forma induzida na presença de inflamação, mas pode também ser encontrada em tecidos cerebrais e renais, na ausência de inflamação (Silva, Ricardo, 2016). Os AINEs que apresentam maior seletividade pela enzima COX-2 foram desenvolvidos com o objetivo de provocar menos efeitos colaterais, tais como danos na mucosa gastrintestinal. Apesar disso, alguns estudos demonstraram não existirem evidências que comprovem a segurança gastrintestinal dos anti-inflamatórios seletivos da COX-2 em relação aos não seletivos, sugerindo que esses fármacos não são tão seguros como se imaginava (Silva, Ricardo, 2016).

Os AINEs também antagonizam os receptores de prostaglandinas, reduzem a permeabilidade capilar, diminuindo o edema e vermelhidão, e inibem a liberação de PGE o que leva a redução do estado febril. São as drogas de primeira escolha no tratamento de doenças reumáticas e não-reumáticas como, artrite reumatóide, osteoartrite e artrite psoriática, assim como nas seqüelas de traumas e contusões e ainda nos pós-operatórios (Muri, 2009).

A distribuição dos AINEs nos tecidos lesionados, sangue e outras áreas do corpo, é uma consideração importante para assegurar a atividade no local da inflamação, bem como reduzir os riscos relacionados à atividade terapêutica sobre

as enzimas COX através do organismo. São classificados como ácidos ou não ácidos baseados na sua estrutura química, e a acidez do fármaco tem efeito na sua distribuição. Os que tem grupos funcionais ácidos como no caso do: diclofenaco, ibuprofeno e cetoprofeno e com alto grau de ligação às proteínas plasmáticas, se acumulam seletivamente e persistem nos sítios de inflamação, permanecendo mais tempo no local inflamado que no plasma; enquanto que os não ácidos como: celecoxib, etoricoxibe, são distribuídos homoganeamente por todo o corpo (Martinez, et al, 2017).

É o principal tratamento para a dor leve e moderada devido as suas propriedades analgésicas prolongadas. A principal limitação no uso dos AINES, principalmente em caso de uso prolongado, são os seus efeitos gastrointestinais que estão entre os mais graves, incluindo náuseas, dor abdominal e úlcera gástrica (Muri, 2009).

2.2 IBUPROFENO ARGININA E SEU EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO

O ibuprofeno tem sido usado há mais de 30 anos, já tendo sido completamente testado (Davies, 1998). Trata-se de um derivado do ácido fenilpropiónico, inibidor da síntese das prostaglandinas, tendo propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e antipiréticas, a atividade analgésica é do tipo não-narcótica, ou seja, inibindo substâncias que causam dor através da inflamação. Atua inibindo as ciclooxigenases e evitando assim a consequente formação de mediadores pró-inflamatórios. O início de ação ocorre em cerca de 15 a 30 minutos após a ingestão. A taxa de ligação proteica é alta (99%) e a concentração plasmática máxima é atingida em 1,2 a 2,1 horas, tendo duração de 4 a 6 horas, com meia vida de eliminação de 1,8 a 2 horas. A biotransformação é hepática e a excreção renal, se completa praticamente em 24 horas após a última dose, sendo menos de 1% excretado na forma inalterada (Rainsford, 2003).

A sua elevada ligação às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina, permite que o fármaco, quando administrado por via oral, seja absorvido na sua totalidade no trato intestinal e com uma biodisponibilidade próxima de 100%. Quando está associado à arginina que é um aminoácido básico, sua solubilidade

aumenta, o que garante rápida absorção do componente ativo. É uma vantagem, especialmente nos casos de dor intensa, em que um efeito analgésico imediato é desejável (SEABRA, 2015).

Pertence aos inibidores não seletivos da COX-2, de maior interesse na clínica odontológica, assim como diclofenaco e o naproxeno. A dose de 2.400 mg ao dia equivale a 4g de ácido acetilsalicílico em seu efeito anti-inflamatório. Doses menores que 2.400mg ao dia equivale a sua eficácia analgésica, sua dose usual é de 600 mg quatro vezes ao dia (SOUZA, Fernanda, 2014).

Para o alívio da dor moderada a intensa, o ibuprofeno tem demonstrado superioridade à aspirina (650 mg) e ao paracetamol (600 mg) com ou sem codeína (60 mg). Além disso, o ibuprofeno apresenta menos efeitos colaterais do que as combinações com opióides (Davies, 1998; Rainsford, 2009; Aminoshariae *et al.*, 2016).

Devido ao seu efeito anti-inflamatório, os AINEs podem suprimir o edema até certo grau após os procedimentos cirúrgicos. O bom efeito analgésico combinado com o benefício do anti-inflamatório adicional faz dos AINEs, especialmente o ibuprofeno, a droga de escolha para a dor dentária aguda quando não há contra-indicações para seu uso.

Após a administração, 70 a 80% da dose terapêutica é excretada com a urina e fezes, na forma de uma mistura do composto original livre inalterado e metabólitos. O ibuprofeno sofre metabolização oxidativa hepática por ação da isoenzima CYP2C9. Foram identificados quatro metabólitos de fase I na urina: o 1-hidroxi-ibuprofeno, o 2-hidroxiibuprofeno, o 3-hidroxi-ibuprofeno e o carboxi-ibuprofeno. Uma outra via metabólica, em menor quantidade é a conjugação com o ácido glucurônico. Todos os metabólitos identificados são farmacologicamente inativos (Seabra, 2015).

2.3 AMOXICILINA E SEU USO NA ODONTOLOGIA

Os antibióticos são definidos como substâncias químicas que interagem com microrganismos que causam infecções. Atuam auxiliando no processo de defesa, impedindo o metabolismo e reprodução desses microrganismos. A antibioticoterapia também serve para reduzir a incidência de infecção no pós-operatório. Na

Odontologia, o antibiótico é indicado para o tratamento de infecções já estabelecidas e para a profilaxia ou prevenção de infecções (Santos, Laís, 2015).

Os antibióticos podem ser classificados de várias formas: em relação ao mecanismo de ação, como bactericida ou bacteriostático, e em relação ao espectro de ação: de amplo, estreito ou aumentado espectro. A amoxicilina, por exemplo, por inibir a produção de uma estrutura primordial da célula bacteriana (parede celular), acaba provocando lise da mesma, portanto, tem efeito bactericida. Drogas bactericidas causam morte e destruição da bactéria e bacteriostáticos inibem replicação sem matar o microrganismo (Santos, Laís, 2015).

A penicilina é o antibiótico de primeira escolha para combater as infecções endodônticas (Mohammadi, 2009). A amoxicilina (α -amino-p-hidroxi-benzilpenicilina) é um antimicrobiano conhecido há mais de duas décadas e que possui uso clínico bastante difundido devido ao seu amplo espectro de atividade antimicrobiana e alta biodisponibilidade oral. É uma penicilina semi-sintética, do grupo dos β -lactâmicos, por possuir um anel beta em sua estrutura, sendo eficaz contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Fraschini *et al.*, 1990; Mohammadi, 2009; Ostrowski *et al.*, 2009; Mandras *et al.*, 2013).

O mecanismo de ação da amoxicilina baseia-se na inibição da síntese da parede celular, de forma semelhante à penicilina G, diferindo pela maior capacidade de penetração nas barreiras lipídicas, principalmente em microrganismos gram-negativos. Além disso, a amoxicilina atua na parede celular mais complexa, atingindo enzimas localizadas na face externa da membrana celular bacteriana. O fármaco apresenta excelente absorção por via oral, baixa taxa de efeitos colaterais e boa penetração tecidual (Cooreman *et al.*, 1993; Baglie *et al.*, 2000; Pingale *et al.*, 2012). A concentração plasmática máxima da amoxicilina ocorre após cerca de 2 horas da administração, atingindo níveis plasmáticos de 10,3 $\mu\text{g/mL}$ após a administração de 1g do fármaco e 12,8 mg/L após a administração de 2g do fármaco. A amoxicilina exibe baixa ligação às proteínas plasmáticas, em torno de 17%. É rapidamente distribuída pelo corpo e possui um tempo de meia-vida de eliminação que varia de 1,0 a 1,5 horas, que ocorre preferencialmente por excreção na urina em sua forma ativa (Cooreman *et al.*, 1993; Wibawa *et al.*, 2002; Khuroo *et al.*, 2008; De Velde *et al.*, 2016).

2.4 INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS RELACIONADAS À ANTIBIÓTICOS

Entende-se por interação medicamentosa, a modificação do efeito de uma droga causado pela administração simultânea de outra droga, plantas medicinais ou alimentos, as consequências dessas interações podem refletir não apenas no microorganismo mas também no paciente, podendo causar efeitos indesejados (Ramos *et al*, 2016).

As interações entre medicamentos podem ser classificadas em sinérgicas, quando o efeito da interação é maior que o efeito individual dos medicamentos, e antagônicas, quando o efeito da interação é menor que o efeito individual dos medicamentos ou quando há alteração ou anulação da resposta farmacológica dos mesmos. O mecanismo de interação medicamentosa pode ser de caráter físico-químico, farmacodinâmico ou farmacocinético (Leão, 2014).

A interação farmacocinética é aquela em que um medicamento afeta a absorção, distribuição, ligação às proteínas plasmáticas, metabolismo ou excreção de outro medicamento. A interação farmacodinâmica é distinguida pelo fato de que dois medicamentos (ou um medicamento e uma substância endógena) competem pelo mesmo receptor como é o caso da atropina que bloqueia reversivelmente os receptores muscarínicos de acetilcolina. A interação química envolve a união química entre duas drogas, onde um deles bloqueia o efeito do outro, como o sulfato de protamina que antagoniza o efeito da heparina, ou também os cátions divalentes ou trivalentes como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} que formam quelato com tetraciclina e inibem sua absorção (Ramos, 2016).

As interações medicamentosas ocorrem, *in vivo*, quando os fármacos interagem em qualquer ponto durante sua absorção, distribuição, metabolismo, excreção (interações farmacocinéticas) ou interagem em um local receptor comum ou ainda quando têm efeitos cumulativos ou inibidores devido a ações em diferentes locais de um órgão (interações farmacodinâmicas). Desta forma, toma-se necessário que se tenha à disposição informações sobre as possíveis interações entre duas ou mais drogas prescritas simultaneamente (Junqueira, 2002).

A maioria dos medicamentos são metabolizados no fígado, particularmente pela família do citocromo P450, constituído por abundantes enzimas microssomais localizado no retículo endoplasmático liso dos hepatócitos, bem como nos

enterócitos do intestino delgado. Essas enzimas são agrupadas em subfamílias ou isoformas, entre quais os mais abundantes são CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4. Esta última participa do metabolismo de mais de 50% dos medicamentos. Dependendo do papel que desempenham os medicamentos se classificam como indutores, inibidores ou são substratos. Os medicamentos indutores são aqueles que induzem uma alta atividade metabólica em certa isoforma do citocromo P450, com potencial consequência da diminuição dos níveis plasmáticos de medicamentos que são metabolizados na referida isoforma. As drogas inibitórias reduzem a atividade metabólica de uma isoforma específica, resultando em acumulação do substrato para essa subfamília com consequências semelhantes às produzidas por uma overdose. Um substrato é um fármaco que é metabolizado em uma subfamília particular do citocromo P450 como pode ser, por exemplo, a isoforma CYP3A4 (Ramos, 2016).

Os agentes antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções odontológicas são normalmente utilizados por período de tempo maior, quando comparados aos outros fármacos utilizados na clínica odontológica, o que pode contribuir para o surgimento de interações medicamentosas. Os principais mecanismos de interação que ocorrem com este grupo de fármacos estão relacionados com a competitividade destes pela ligação às proteínas plasmáticas (sendo os fármacos que apresentam alto grau de ligação os mais afetados) e a capacidade de alguns fármacos de inibir as enzimas do citocromo P450. Ambos os mecanismos apresentam como consequência o aumento dos níveis plasmáticos destes fármacos. A maioria das infecções dentais é tratada com antimicrobianos do grupo das penicilinas, metronidazol e a tetraciclina (De Cassia Bergamaschi, *et al*, 2006).

Os principais efeitos adversos envolvendo os antimicrobianos, são reações de anafilaxia (reação alérgica sistêmica), diarreia, processos inflamatórios intestinais, nefrotoxicidade e cardiotoxicidade (Moraes *et al*, 2013).

Na odontologia, a amoxicilina é considerada o antimicrobiano de primeira escolha para diversos tipos de infecções, sendo comum seu uso associado aos AINES. Um estudo realizado com voluntários sadios verificou que a administração de 100mg de diclofenaco sódico por via oral reduziu a biodisponibilidade oral de 2g de amoxicilina, devido à redução na absorção, e aumentou em 18% a excreção

renal da amoxicilina. A azitromicina tem sido uma boa opção para uso odontológico, devido suas características de amplo espectro de ação, baixa incidência de efeitos colaterais e boa penetração tecidual. A administração de piroxicam 20mg por dia, associada à azitromicina 500mg por dia, durante 7 dias, demonstrou redução na distribuição de piroxicam na gengiva e no osso alveolar (De Cassia Bergamaschi, *et al*, 2006).

Considerando a interação medicamentosa entre diferentes grupos de fármacos, podemos citar a interação entre as penicilinas, as tetraciclina e o metotrexato que é um fármaco antimetabólico indicado em baixas doses, no tratamento de artrite reumatóide e, em altas doses, na terapia anticancerígena. Os prováveis mecanismos dessa interação são devidos ao deslocamento do metotrexato da ligação à proteína plasmática, da diminuição do metabolismo hepático e da diminuição da excreção renal, essa interação é considerada prejudicial ao organismo e deve ser evitada, principalmente em pacientes idosos ou naqueles que apresentam diminuição da função renal (De Cassia Bergamaschi, *et al*, 2006). Interações entre os AINES e o metotrexato são mais comuns de ocorrer na terapia anticancerígena. Os antiinflamatórios podem reduzir a excreção renal do metotrexato, predispondo este medicamento aos seus efeitos tóxicos, como por exemplo, falência renal (De Cassia Bergamaschi, *et al*, 2006).

A amoxicilina é o antimicrobiano mais utilizado na odontologia, e muitas vezes o seu uso está associado aos antiinflamatórios não esteroidais (AINES). Um estudo realizado por Bergamaschi *et al*. (2006) verificou em indivíduos sadios que a administração de diclofenaco sódico por via oral causou uma redução na biodisponibilidade de amoxicilina provavelmente devido a uma queda na absorção e aumento da excreção renal (MORAES *et al*, 2013).

3 OBJETIVOS

Devido à grande aplicabilidade na clínica odontológica sobre interações medicamentosas relacionadas ao uso concomitante de antibióticos e anti-inflamatórios, foi proposto como objetivo desta pesquisa avaliar a influência do Spidufen® (ibuprofeno + arginina), sobre as concentrações plasmáticas e no tecido periapical de amoxicilina em ratos com periodontite apical induzida.

4 METODOLOGIA E ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizados 28 (vinte e oito) ratos da linhagem Wistar, machos de 45 dias, pesando entre 150 e 200 gramas. O cálculo amostral foi realizado com base nos dados do estudo anterior, de análise da concentração tecidual de amoxicilina após o uso de anti-inflamatório (Mattos Filho *et al.*, 2006).

Os cálculos foram realizados com base na média e desvio padrão, da concentração da droga, para um poder do teste em 95%. Assim, para 4 grupos experimentais, obtivemos um tamanho de efeito de 1,081, sendo estimado um tamanho amostral de 6 animais por grupo. Desta forma, optamos por um tamanho amostral de 7 animais prevendo eventuais perdas durante o procedimento experimental.

4.2 INDUÇÃO DAS LESÕES PERIAPICAIS AGUDAS

Para a indução da lesão periapical aguda, todos os animais foram sedados com aplicação intraperitoneal de 400 mg/kg de hidrato de cloral (Vachon *et al.*, 2000). Após os animais mostrarem sinais visíveis de sedação (perda de reflexo), foram acomodados em uma mesa operatória especial que possibilitou o adequado posicionamento e contenção, mantendo a abertura bucal. Anestesia local infiltrativa com mepivacaína a 2% com epinefrina 1:100.000 (0,45mL) foi realizada na região para minimizar o desconforto trans-operatório.

Os animais foram submetidos à exposição pulpar do primeiro molar inferior esquerdo, através da abertura endodôntica do mesmo com broca de aço carbide multilaminada ½ (Jota, Suíça) montada em micro motor (Kavo L-Motor 181DB intramatic e contra-ângulo Kavo 20 – Western German) em baixa rotação. Introduziu-se a broca na fossa distal, situada mesialmente à cúspide distal da face oclusal do dente, na profundidade de cerca de 1 mm, em seguida, introduziu-se a broca na fossa mesial, com o intuito de fazer a abertura para encontrar o canal distal e mesial, respectivamente (Teixeira *et al.*, 2011).

Com lima K#08 (Maillefer Dentsply, Suíça) a polpa foi extirpada, afim de não provocar sintomatologia dolorosa no período pós-operatório. Com a finalidade de gerar contaminação bacteriana e induzir a lesão periapical aguda, os dentes permaneceram abertos sem a realização de limpeza, com a cavidade pulpar exposta ao meio bucal por 15 (quinze) dias e, então, os animais foram anestesiados novamente com hidrato de cloral e os dentes restaurados com resina composta. Após isto, permaneceram fechados durante 07 (sete) dias, para simular um processo agudo, e, depois deste período, os animais foram medicados e submetidos à ortotanásia.

O primeiro molar inferior direito dos animais não recebeu nenhum tratamento, sendo um controle contra-lateral.

4.3 ADMINISTRAÇÃO DAS MEDICAÇÕES

Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 (quatro) grupos com n=7, conforme a medicação que receberam:

1. Controle Placebo: gavagem com 1,0mL de solução salina a 0,9% (intragástrica);
2. Spidufen® (Suspensão de 100mg/kg);
3. Amoxicilina (Suspensão de 100mg/kg);
4. Spidufen® (Suspensão 100mg/kg) com Amoxicilina (Suspensão 100mg/kg).

Decorrido o período experimental, os animais foram tratados com uma dose única (de acordo com o grupo), com administração via intragástrica (gavagem) 01 hora antes da ortotanásia com a finalidade de se atingir o pico da concentração dos medicamentos para posterior obtenção das amostras.

4.4 ORTOTANÁSIA DOS ANIMAIS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

A ortotanásia dos animais ocorreu após a sedação pela aplicação de injeção com hidrato de cloral em sobredose, de forma a deprimir o sistema nervoso central e produzir inconsciência irreversível e morte, seguido de exsanguinação (retirada do sangue) (Chorilli, 2007).

Por este método, obteve-se amostra de sangue (2 mL) da artéria aorta. O sangue foi retirado com seringa estéril e então estas amostras foram colocadas em tubos plásticos esterilizados e submetidas à retração do coágulo em banho-maria a 37°C. Em seguida, as amostras de sangue foram centrifugadas durante 10 (dez) minutos a 3.500 rpm. Logo após, foram retiradas 3 (três) alíquotas de 30 µL do plasma sanguíneo de cada animal

As mandíbulas dos animais foram retiradas, separadas em duas hemimandíbulas e dissecadas, utilizando-se cabo de bisturi com lâmina nº 15 Bard-Parker. Este procedimento foi realizado para que o osso do local da lesão pudesse ser analisado (Figura 1A). O material foi colocado em recipientes devidamente etiquetados para posterior realização das radiografias e análise histopatológica (Teixeira *et al.*, 2011).

4.5 ANÁLISE RADIOGRÁFICA DA FORMAÇÃO DE LESÃO PERIAPICAL

Com o objetivo de verificar se houve a formação da lesão periapical, realizou-se a tomada radiográfica das mandíbulas dos animais com aparelho de radiografia marca Gnatus modelo Timex-70 (Gnatus Equipamentos Médico-Odontológicos Ltda.; Ribeirão Preto, SP, Brasil).

Utilizou-se filme radiográfico KODAK ultra-speed, formato-tamanho = 30,5 x 40,5 (11/4x15/8 in), velocidade do filme = D. A distância feixe-filme foi de 20 cm, com exposição de 0,64 segundo e o filme foi revelado e fixado em câmara escura por 1,5 min (Figura 1B e 1C).

4.6 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA E TECIDUAL DE AMOXICILINA

4.6.1 Curva Padrão

Construiu-se uma curva padrão utilizada como controle, com concentrações conhecidas de amoxicilina para análise e mensuração do diâmetro dos halos de inibição formados a partir delas. Assim, por meio de uma interpolação dos dados

obtido em um modelo de regressão linear, foi possível determinar a concentração de amoxicilina em cada amostra.

4.6.2 Antibiograma

4.6.2.1 Plasma

A partir do plasma sanguíneo dos animais, coletado previamente, realizou-se o antibiograma para confirmação da quantidade plasmática de amoxicilina nos diferentes grupos. Em placas de Petri descartável (150x20mm) contendo ágar Mueller-Hinton inoculado com 10^8 UFC/mL de *S. aureus* ATCC 25923 (equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland) colocou-se discos de papel filtro contendo 10 uL do plasma dos animais. Estas placas foram incubadas em estufa a 33-35 °C por 16-18 horas. Após este período mediu-se com um paquímetro os halos de inibição em milímetros formados a partir de cada amostra.

4.6.2.2 Tecido periapical

As mandíbulas dos animais foram cortadas conforme delimitação pré-definida com um corte vertical a partir do centro da coroa do 2º molar inferior até 3 mm acima da borda inferior da mandíbula, seguido de um corte horizontal até a mesial do 1º molar inferior, utilizando-se de discos de aço dupla face (0,10x22mm) adaptados (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) por um mandril a peça reta do micromotor (Figura 1).

Após, as amostras foram colocadas em tubos (tipo Falcon) de 15 mL, com 2 mL de soro fisiológico. As amostras juntamente com o soro fisiológico foram trituradas por um homogeneizador de tecidos (Tissumizer - Tekmar company, tipo SDT 1880) e depois foram centrifugadas durante 10 (dez) minutos a 3.500 rpm (Figura 2A). O sobrenadante foi coletado com uma pipeta e dispensado em outros tubos de 15 mL previamente identificados.

O sobrenadante de cada amostra animal foi submetido a 04 ciclos de 120 segundos de congelamento em nitrogênio líquido a -170°C, intercalados por períodos de descongelamento de 120 segundos em banho-maria a 30°C (Figura

2B), com o objetivo de reduzir o número de bactérias presentes na câmara pulpar/canal radicular (Mandras *et al.*, 2013).

Após este procedimento, em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton inoculado com 10^8 UFC/mL de *S. aureus* (equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland) foram colocados discos de papel filtro contendo 10 uL do sobrenadante das amostras com o tecido periapical dos animais. Estas placas foram incubadas em estufa a 33-35°C por 16-18 horas (Figura 2C). Após este período mediu-se com um paquímetro digital (Mitutoyo 150mm, resolução 0,01mm, ref. 500-196-30b, Mitutoyo Sul Americana Ltda, Suzano, SP, Brasil) os halos de inibição formados.

4.7 ANÁLISE DOS DADOS

A reprodutibilidade dos dados inter e intra-examinador foi testada para a mensuração do halo de inibição e região periapical (radiografias). Assim, para o halo de inibição foram comparadas as medidas entre dois diferentes avaliadores (inter-examinador). Para a medida radiográfica da região periapical, foram tomadas duas medidas em momentos distintos do mesmo avaliador (intra-examinador). Todas as análises foram realizadas após o prévio esclarecimento e discussão a respeito dos parâmetros a serem considerados durante as medidas. A análise da reprodutibilidade foi obtida com o método de Bland & Altman e teste t para uma única amostra, tendo com 0 (zero) a reprodutibilidade perfeita em que não há diferença entre a primeira e segunda medida (Martelli Filho *et al.*, 2005).

Para a análise das medidas radiográficas da área periapical foram utilizados o teste t pareado (comparação entre o lado teste e controle) e ANOVA (comparação entre os grupos). A análise das medidas de halo de inibição de amostras obtidas do plasma e tecido periapical foi realizada com ANOVA. Quando os dados não apresentaram distribuição normal, foram utilizados os testes não paramétricos de Wilcoxon (comparação entre o lado teste e controle) e Kruskal-Wallis (comparação entre os grupos). O nível de significância adotado foi de 5% (GraphPad Prism Version 7.00 for Windows, La Jolla, California USA)

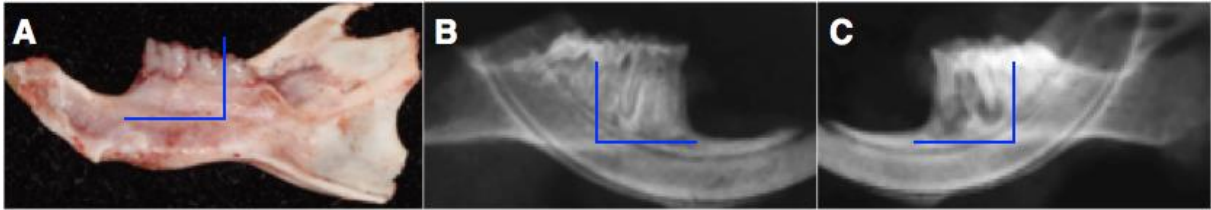


Figura 1. (A) Hemi-mandíbula dissecada. (B) Radiografia periapical do lado controle (sem lesão periapical). (C) Radiografia periapical do lado teste (com lesão periapical). Linhas representam a área de secção da mandíbula para obtenção das amostras de tecido (peso médio de cada amostra: $193,6 \pm 20,23$ mg).

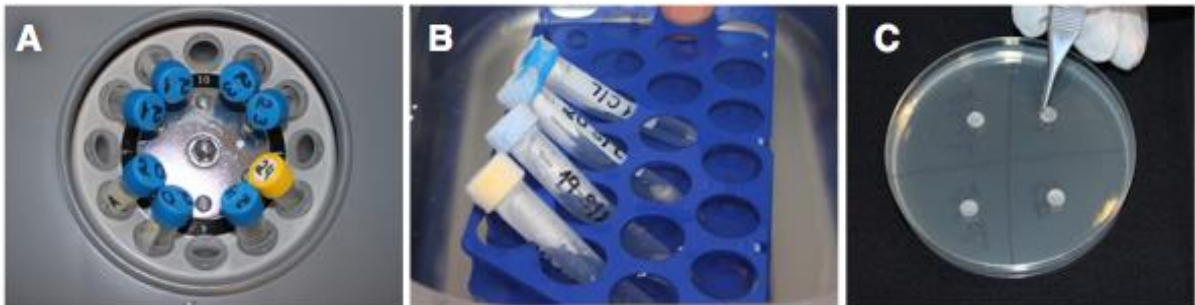


Figura 2. (A) Tubos contendo as amostras de tecido periapical triturado dentro de uma centrífuga. (B) Amostras sendo descongeladas em banho-maria a 37°C . (C) Colocação de discos de papel contendo sobrenadante de amostra tecidual nas placas com *S. aureus*.

5 RESULTADOS

Os dados de reprodutibilidade das medidas do espaço do ligamento periodontal (intra-examinador) e das medidas de halo de inibição, foram consideradas válidas, visto que encontram-se dentro dos limites de concordância, sem diferença significativa do valor hipotético zero (concordância perfeita). Os resultados são apresentados na figura 3.

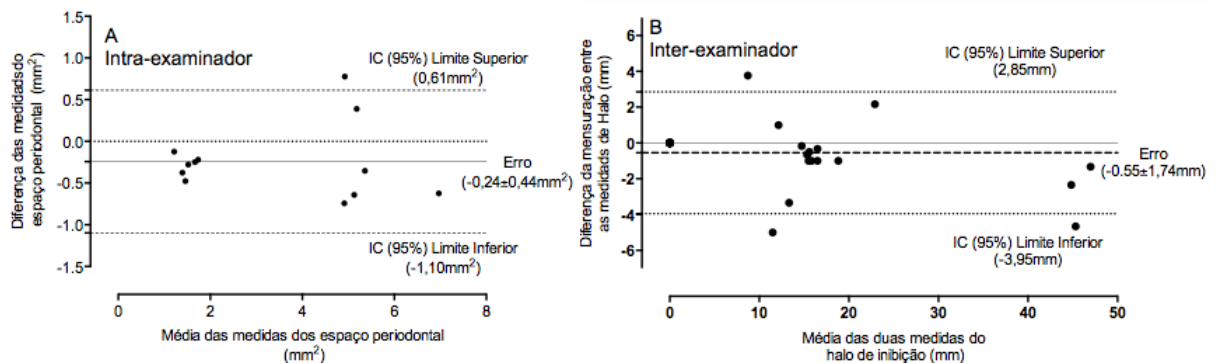


Figura 3. Teste de reprodutibilidade. Cada ponto representa a média entre as duas medidas pela diferença entre ambas. (A) Concordância entre duas medidas (radiográficas) do espaço periodontal (área radiolúcida periapical) nos 1^{os} molares inferiores de ratos com e sem contaminação do canal radicular em diferentes momentos. (B) Concordância entre duas medidas (halo de inibição). Método de Bland-Altman, maioria das medidas dentro do intervalo de confiança. Diferença não significativa do valor de referência zero (concordância perfeita). (A) $p=0,0797$; (B) $p=0,1015$ (teste t de student para uma amostra).

A figura 4 apresenta a área radiolúcida periapical nos dentes com indução da lesão periapical (teste) e controle (sem lesão). Os resultados confirmam que o método foi válido para indução da lesão periapical em todos os grupos em comparação com o controle (diferenças significativas). Não houve diferenças entre os grupos, considerando os lados com (teste) e sem (controle) indução da lesão periapical.

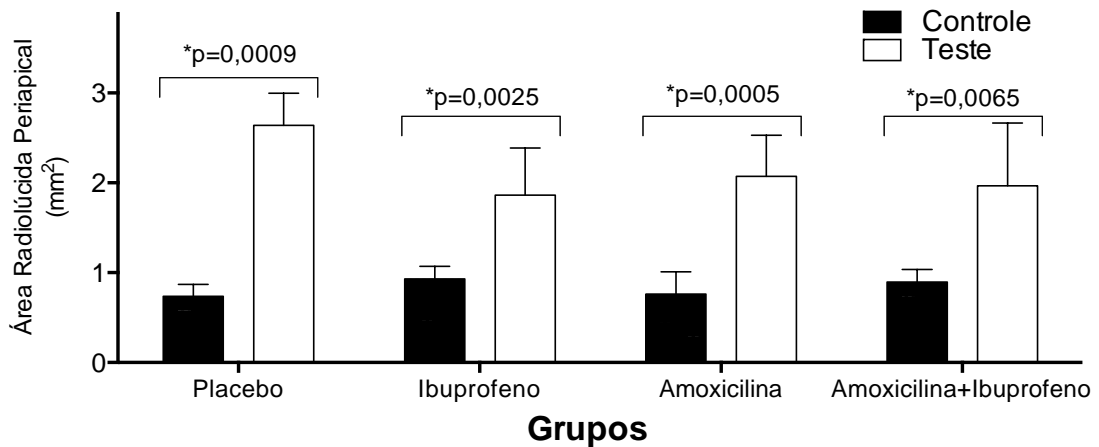


Figura 4. Média e desvio padrão da área radiolúcida na região periapical (Controle: sem indução da lesão periapical; Teste: indução da lesão periapical) nos diferentes grupos: Placebo (Salina); Ibuprofeno (100 mg/kg); Amoxicilina (100 mg/kg); e Amoxicilina (100 mg/kg) +Ibuprofeno (100 mg/kg). Houve diferenças significativas na área radiolúcida periapical entre o controle e teste para todos os grupos (* $p < 0,05$, teste t pareado). Não foram observadas diferenças entre os controle ($p = 0,1075$, ANOVA) e teste ($p = 0,1473$, ANOVA).

A figura 5 mostra a curva padrão considerando as médias de diâmetros dos halos de inibição e o logaritmo das concentrações de amoxicilina, sendo estabelecidos sua equação matemática e o coeficiente de correlação (r^2). A curva padrão obtida demonstra que quanto maior a concentração de amoxicilina no plasma, maior o tamanho do halo de inibição.

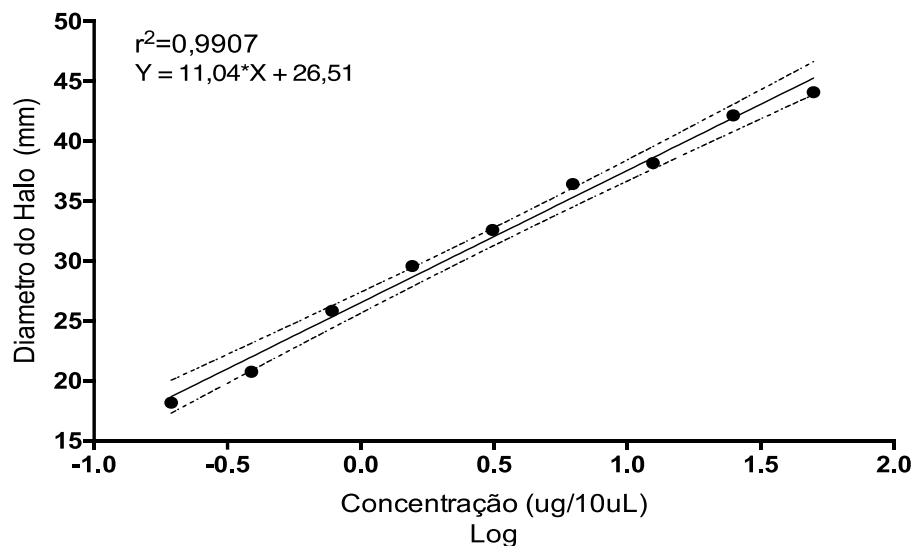


Figura 5. Curva padrão entre o halo de inibição (mm) e a concentração de amoxicilina (Log ug/10 uL). Correlação significativa – $p < 0,0001$.

Após a construção da curva padrão, a concentração de amoxicilina no plasma foi obtida tomando como base o halo de inibição. Para o grupo controle e

teste foram utilizados o mesmo animal, sendo o lado sem a formação de lesão periapical, considerado como controle.

Os resultados são apresentados na figura 6. O grupo tratado com amoxicilina apresentou halos de inibição maiores, o que sugere maiores concentrações da droga no plasma do que o grupo amoxicilina + ibuprofeno.

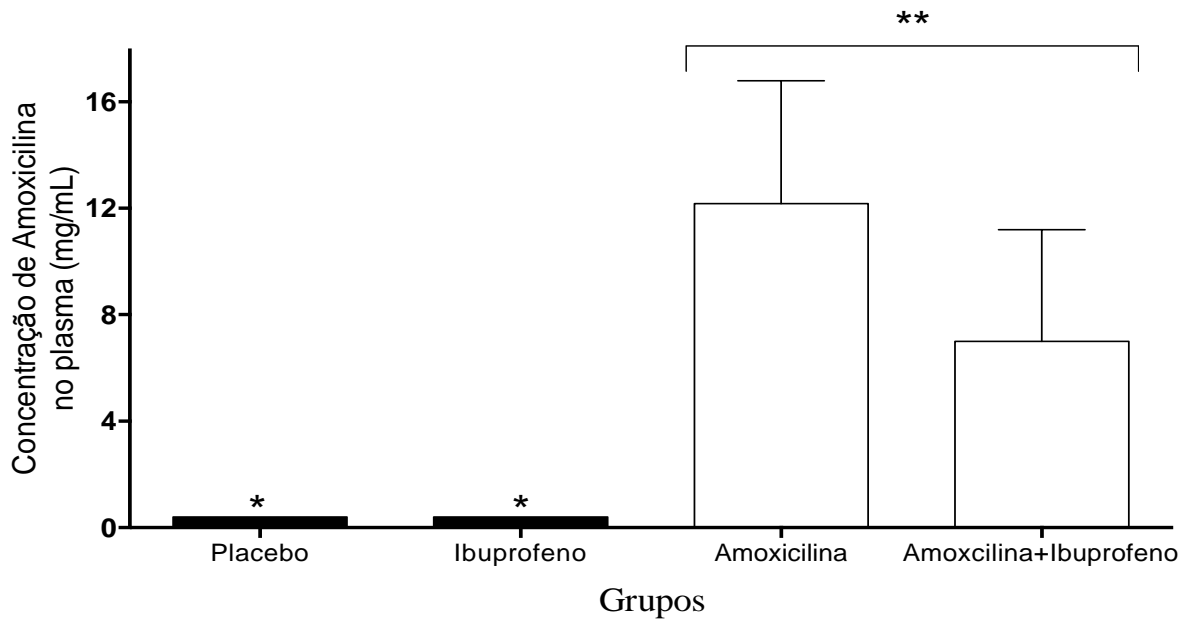


Figura 6. Média e desvio padrão da concentração plasmática de amoxicilina (mg/mL) nos animais tratados: Placebo (Salina); Ibuprofeno (100 mg/kg); Amoxicilina (100 mg/kg); e Amoxicilina (100 mg/kg) +Ibuprofeno (100 mg/kg). (*) $p < 0,05$, diferença significativa com Amoxicilina e Amoxicilina + Ibuprofeno. (**) $p < 0,05$ entre Amoxicilina e Amoxicilina + Ibuprofeno. ANOVA com pós teste de Tukey.

Os resultados da concentração de amoxicilina no tecido periapical não mostraram diferenças significativas entre os grupos, tanto para o controle quanto para o teste. Foi observada apenas diferença significativa entre os dentes teste e controle para o grupo tratado com amoxicilina (Figura 7).

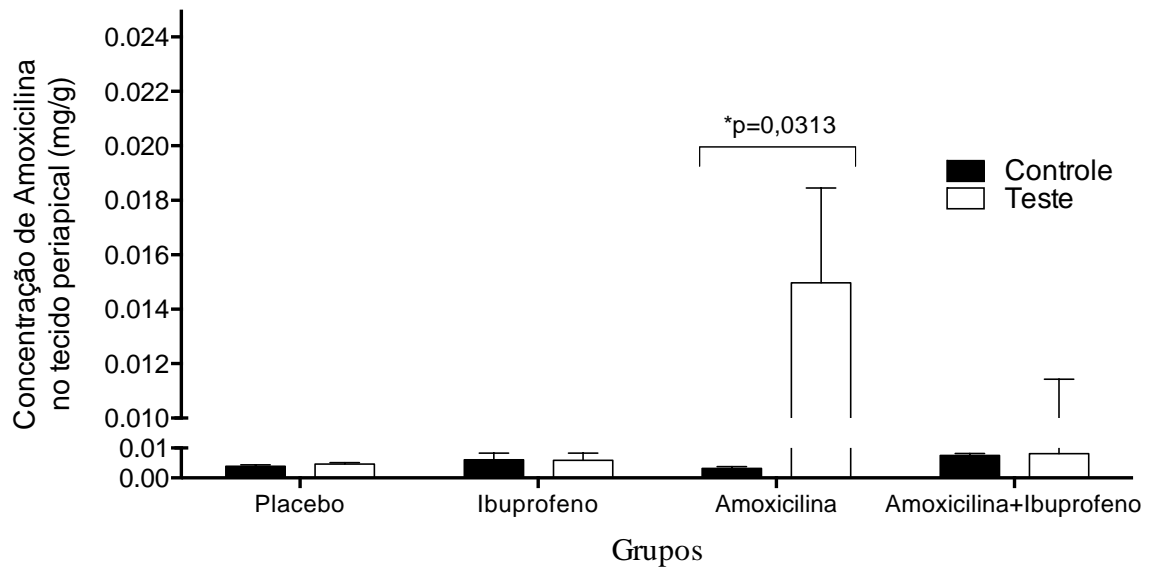


Figura 7. Média e desvio padrão da concentração tecidual de amoxicilina (mg/g) nos animais tratados: Placebo (Salina); Ibuprofeno (100mg/kg); Amoxicilina (100mg/kg); e Amoxicilina (100mg/kg) +Ibuprofeno (100mg/kg). Houve diferenças significativas na concentração de amoxicilina no tecido periapical entre os dentes teste e controle para o grupo tratado com amoxicilina (* $p < 0,05$, teste Wilcoxon).

6 DISCUSSÃO

Uma infecção na polpa dentária induz a uma resposta inflamatória, onde acarretará em destruição e contaminação dos canais radiculares, por sua vez ocasionando uma periodontite periapical. As alterações patológicas apicais são consequentemente vindas da inflamação da polpa dental. Estímulos nocivos da cavidade pulpar atingem a região periapical, podendo ocasionar dois tipos de inflamação periapical: aguda ou crônica. A necrose pulpar pode ocorrer devido a fatores químicos, físicos e principalmente bacteriológicos, dependendo das condições de defesa da polpa e da virulência agente agressor. As lesões periapicais associadas à necrose pulpar resultam dos mesmos fatores etiológicos, contudo, a necrose somente resultará em patologia periapical quando não tratada precocemente (Tremea, 2017). A necrose pulpar é uma infecção mediada por um biofilme bacteriano sendo que sua eliminação do sistema de canais radiculares é o principal objetivo do tratamento endodôntico (Santos, Evimar, 2015). Em muitas situações, a terapia medicamentosa sistêmica se faz necessária no auxílio da eliminação de microrganismos, de seus produtos e também no controle da dor.

Os resultados do presente estudo mostraram que o ibuprofeno interferiu na concentração plasmática de amoxicilina em ratos com lesão periapical. Pois, quando a amoxicilina foi administrada juntamente com o ibuprofeno, a concentração de amoxicilina foi menor do que quando esta foi utilizada isoladamente. Esse resultado mostra que o uso conjunto de anti-inflamatório e antibiótico, pode interferir na concentração plasmática de antibióticos e por consequência na eficácia deste medicamento. Outros estudos utilizando outras classes de anti-inflamatórios tiveram resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa, em que ao associar amoxicilina com outro AINE (diclofenaco), houve grande redução do antibiótico no plasma e nos tecidos, provavelmente por uma interação na absorção, já que são farmacocineticamente diferentes (Groppo *et al.*, 2004; De Cassia Bergamaschi *et al.*, 2006; Mattos Filho *et al.*, 2006).

Na prática clínica se faz necessário o uso de antibiótico e anti-inflamatório para o tratamento da dor, da inflamação e para prevenir ou combater processos infecciosos. É comum que estes medicamentos sejam administrados pelos pacientes no mesmo horário, por exemplo, a cada 8 horas; por isso este trabalho

tem grande importância para avaliar se existe algum tipo de interação medicamentosa entre a amoxicilina e o ibuprofeno+ arginina, pois assim é possível planejar outras formas para administração desses medicamentos.

Este é o primeiro estudo na literatura que se propõe a avaliar a influência do ibuprofeno na concentração de amoxicilina no plasma e em áreas de lesão periapical.

Para verificar se houve a formação da lesão periapical, foi realizada a técnica radiográfica periapical, que é utilizada quando se deseja obter o máximo de detalhes possíveis das regiões dentárias, especialmente na região de periápice e periodonto. Assim, a radiografia periapical é indicada para o conhecimento da forma anatômica dos condutos radiculares e número de raízes, avaliação de lesões periapicais, avaliação da crista óssea alveolar e região de furca radicular (Silva, João, 2016). Apesar de confirmar radiograficamente o desenvolvimento da lesão periapical, os resultados não mostraram diferenças significativas entre grupos quando avaliada a concentração tecidual de amoxicilina presente em áreas de lesão periapical. Um dos possíveis motivos para este resultado provavelmente se deve ao reduzido tamanho das lesões periapicais e por consequência, baixa quantidade de amoxicilina. As diferenças na concentração de amoxicilina foram significativas apenas comparando as áreas com e sem lesão periapical no grupo tratado apenas com amoxicilina. Esse resultado provavelmente se deve a área de lesão periapical no grupo teste (com lesão periapical).

Outro aspecto a ser considerado foi o método para determinar a concentração da amoxicilina, por meio de uma curva padrão de acordo com as medidas de halo de inibição de *S. aureus*. O método microbiológico é eficaz na medição das concentrações de amoxicilina em fluidos corporais e teciduais (Grosso *et al.*, 2004), porém existem outras técnicas que têm sido desenvolvidas com a finalidade de avaliar adequadamente a quantidade de agentes antimicrobianos em amostras pequenas de fluidos ou tecidos corporais. Dentre os métodos utilizados para a determinação da concentração de antimicrobianos em fluidos biológicos podemos citar: a mercurimetria, a cromatografia líquida de alta eficiência, a iodometria, o método óptico e a espectrofotometria em ultravioleta (Wibawa *et al.*, 2002; Khuroo *et al.*, 2008; Pingale *et al.*, 2012). No entanto, estes métodos não possuem a capacidade de avaliar se o antibiótico está ou não ativo. Portanto,

métodos para detectar a atividade de antibióticos em baixas concentrações ainda necessitam ser estabelecidos e validados.

Essa avaliação é de grande importância, uma vez que, na Endodontia, recomenda-se que os antibióticos devem ser usados apenas como complemento da terapia endodôntica não cirúrgica ou cirúrgica definitiva, estando reservada para pacientes com sinais sistêmicos e sintomas associados a infecções endodônticas, contribuindo para evitar complicações relacionadas às interações medicamentosas e risco de resistência bacteriana a partir da prescrição inadequada deste fármaco. Considerando o modelo empregado neste estudo, se houver dificuldade da chegada do antibiótico no local de ação, essa associação deve ser evitada e outras alternativas medicamentosas devem ser empregadas (Bolfoni, 2018).

A via de administração, absorção e a distribuição, são fatores importantes na concentração plasmática e tecidual de medicamentos. A absorção é o mecanismo de passagem do fármaco do seu local de administração para a corrente sanguínea, e a distribuição é o mecanismo de passagem do fármaco da corrente sanguínea para o interior dos tecidos (De Velde *et al.*, 2016). Neste estudo, tanto a amoxicilina quanto o ibuprofeno foram administrados por via intragástrica (gavagem), assim o local de absorção foi o mesmo. O início da ação do ibuprofeno ocorre em cerca de 15 a 30 minutos (Davies, 1998; Rainsford, 2003; 2009). Geralmente é considerado o protótipo dos AINEs contemporâneos e apresenta um perfil de eficácia e segurança bem documentado (Davies, 1998; Rainsford, 2009). Por este motivo, foi o anti-inflamatório não esteroidal de escolha desta pesquisa.

A amoxicilina não possui alta taxa de ligação a proteínas plasmáticas (18%). A meia vida de eliminação é aproximadamente 1h. A amoxicilina distribui-se facilmente pelos tecidos e líquidos orgânicos e apenas 19 a 33% da fração absorvida é metabolizada, essencialmente pela hidrólise do anel β -lactâmico com formação do ácido amoxicilóico, que é o correspondente ácido penicilóico nas restantes penicilinas (Fraschini *et al.*, 1990; Cooreman *et al.*, 1993; Baglie *et al.*, 2000; Ostrowski *et al.*, 2009). Em Odontologia, a amoxicilina é considerada o antimicrobiano de primeira escolha em diversos tipos de infecções. É recomendada para o tratamento das infecções bucais devido à sua eficácia contra a maioria dos microrganismos isolados de abscessos dento-alveolares e por promover

concentrações teciduais satisfatórias (Mohammadi, 2009; De-Paula *et al.*, 2014; Marra *et al.*, 2016). Por este motivo foi o antimicrobiano de escolha desta pesquisa.

Devido ao ibuprofeno ter maior taxa de ligação a proteínas plasmáticas pode ocorrer uma maior concentração plasmática do ibuprofeno. O menor tamanho molecular faz com que o ibuprofeno passe pelas membranas com maior facilidade, chegando mais rapidamente à corrente sanguínea. Outros fatores, como alterações nas características físicas e químicas dos produtos (por exemplo, pH) causada pela combinação de ambas as drogas pode potencializar a absorção de uma e prejudicar a de outra (Rainsford, 2009; De Velde *et al.*, 2016). A absorção intestinal da amoxicilina tem um componente de difusão passiva significativa. Para algumas penicilinas, a absorção intestinal envolve o sistema de transporte dipéptido, tripéptido ou oligopéptido. Este sistema de transporte consiste em dois transportadores de péptidos homólogos, PEPT1 encontrado principalmente no intestino delgado e PEPT 2 encontrado principalmente no rim. A amoxicilina mostrou maior afinidade pelo PEPT2 o que sugere que a reabsorção tubular pode ser importante. Isso significa que a amoxicilina não é bem absorvida no estômago, sendo que sua absorção ocorre em maior parte no intestino delgado (Fraschini *et al.*, 1990; Cooreman *et al.*, 1993; Wibawa *et al.*, 2002).

Não podemos afirmar exatamente qual o mecanismo pelo qual o ibuprofeno interfere na concentração plasmática da amoxicilina, mas podemos sugerir que há um conjunto de alterações que a administração concomitante das drogas causa no organismo, pois assim como em outros estudos onde houve associação de amoxicilina e diclofenaco, os resultados mostraram-se semelhantes, na diminuição da concentração do antibiótico. Porém, considerando o tecido periapical, esse presente estudo não foi capaz de mostrar uma alteração da amoxicilina neste local.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados é possível concluir que o ibuprofeno interfere com a concentração plasmática de amoxicilina, visto que ao serem administrados em conjunto, a concentração do antibiótico foi menor do que quando administrada sozinha. Porém, na amostras de tecido da região periapical, o ibuprofeno não interferiu de forma significativa na concentração tecidual da amoxicilina.

REFERÊNCIAS

AMINOSHARIAE, A. et al. Evidence-based recommendations for analgesic efficacy to treat pain of endodontic origin: A systematic review of randomized controlled trials. **J Am Dent Assoc**, v. 147, n. 10, p. 826-39, Oct 2016.

BAGLIE, S.; GROPPPO, F. C.; FILHO, T. R. Tissue pharmacokinetics of amoxicillin. An experimental design in rats. **Braz J Infect Dis**, v. 4, n. 4, p. 197-203, Aug 2000.

BOLFONI, M.R. Antibiotic prescription for endodontic infections: a survey of Brazilian Endodontists. **Int J Endodontic**, v. 51, p.148–156, 2018.

CHORILLI, M; MICHELIN, D. C; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 28, n.1, p.11 -23, 2007.

COOREMAN, M. P.; KRAUSGRILL, P.; HENGELS, K. J. Local gastric and serum amoxicillin concentrations after different oral application forms. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 37, n. 7, p. 1506-9, Jul 1993.

DAVIES, N. M. Clinical pharmacokinetics of ibuprofen. The first 30 years. **Clin Pharmacokinet**, v. 34, n. 2, p. 101-54, Feb 1998.

DE CASSIA BERGAMASCHI, C. et al. Effect of sodium diclofenac on the bioavailability of amoxicillin. **Int J Antimicrob Agents**, v. 27, n. 5, p. 417-22, May 2006.

DE VELDE, F. et al. Non-linear absorption pharmacokinetics of amoxicillin: consequences for dosing regimens and clinical breakpoints. **J Antimicrob Chemother**, v. 71, n. 10, p. 2909-17, Oct 2016.

DE-PAULA, K. B. et al. Patient automedication and professional prescription pattern in an urgency service in Brazil. **Braz Oral Res**, v. 28, 2014.

FRASCHINI, F. et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of amoxicillin plus clavulanic acid after oral administration in man. **J Chemother**, v. 2, n. 3, p. 171-7, Jun 1990.

GROPPPO, F. C. et al. Effect of sodium diclofenac on serum and tissue concentration of amoxicillin and on staphylococcal infection. **Biol Pharm Bull**, v. 27, n. 1, p. 52-5, Jan 2004.

HARGREAVES, K. M.; KEISER, K. New advances in the management of endodontic pain emergencies. **J Calif Dent Assoc**, v. 32, n. 6, p. 469-73, Jun 2004.

JUNQUEIRA, M.S. **Influência de antiinflamatórios sobre a concentração sérica e tecidual da amoxicilina estudo ex-vivo, em ratos.** 2002, 84. Dissertação (Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba. São Paulo, 2002.

_____. **Influência do diclofenaco sódico na absorção, concentração sérica e excreção da amoxicilina – estudo em ratos.** 2006, 75 .Tese (Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica). Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, 2006.

KHUROO, A. H. et al. Simple, economical, and reproducible LC-MS method for the determination of amoxicillin in human plasma and its application to a pharmacokinetic study. **J Chromatogr Sci**, v. 46, n. 10, p. 854-61, Nov-Dec 2008.

LEÃO, D.F.L; MOURA, C.S; MEDEIROS, D.S. Avaliação de interações medicamentosas potenciais em prescrições da atenção primária de Vitória da Conquista (BA), Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 19, n 1, p. 311-318, Jan, 2014.

MANDRAS, N. et al. Antimicrobial efficacy of cryotreatment against *Enterococcus faecalis* in root canals. **Lett Appl Microbiol**, v. 56, n. 2, p. 95-8, Feb 2013.

MARRA, F. et al. Antibiotic prescribing by dentists has increased: Why? **J Am Dent Assoc**, v. 147, n. 5, p. 320-7, May 2016.

MARTELLI FILHO, J. A. et al. Novo método estatístico para análise da reprodutibilidade. **Rev Dent Press Ortodon Ortopedi Facial**, v. 10, n. 5, p. 122-9, 2005.

MARTINEZ, A.P et al. Antiinflamatorios no esteroides y sus aplicaciones terapéuticas. **Bol Clin Hosp Infant Edo Son**, v. 34, n. 1, p.35-43.

MATTOS FILHO, T. R. et al. Effect of betamethasone and diclofenac sodium on serum and tissue concentration of amoxicillin. In vivo study in rats. **J Appl Oral Sci**, v. 14, n. 5, p. 319-23, Oct 2006.

MICKEL, A. K. et al. An analysis of current analgesic preferences for endodontic pain management. **J Endod**, v. 32, n. 12, p. 1146-54, Dec 2006.

MOHAMMADI, Z. Systemic, prophylactic and local applications of antimicrobials in endodontics: an update review. **Int Dent J**, v. 59, n. 4, p. 175-86, Aug 2009.

MORAES, T. C. et al. Reações adversas e interações medicamentosas relacionadas ao uso de antimicrobianos. **Braz J Periodontal**, v. 23, p. 19-24, March, 2013.

MURI, E.M.F; SPOSITO, M.M.de M; METSAVAHT,L. Antiinflamatórios não esteroidais e sua farmacologia local. **Acta Fisiatr**, v.16, n.4, p.186-190, Out, 2009.

OSTROWSKI, M.; WILKOWSKA, E.; BACZEK, T. In vivo-in vitro correlation for amoxicillin trihydrate 1000 mg dispersible tablet. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 35, n. 8, p. 981-5, Aug 2009.

PINGALE, S. G. et al. Determination of amoxicillin in human plasma by LC-MS/MS and its application to a bioequivalence study. **Wseas Trans Biol Biomed**, v. 9, p. 8, 2012.

RAINSFORD, K. D. Discovery, mechanisms of action and safety of ibuprofen. **Int J Clin Pract Suppl**, n. 135, p. 3-8, Apr 2003.

_____. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. **Inflammopharmacology**, v. 17, n. 6, p. 275-342, Dec 2009.

RAMOS, J.M.F et al. Interacciones farmacológicas relacionadas con la administración de antibióticos betalactámicos. **Rev Adm**, n.73, v. 5, p. 227-234, Jul, 2016.

SANTOS, Laís C.A et al. Avaliação da antibioticoterapia na odontologia. **Arq Bras de Odont**, v. 11, n. 2, p.1-6, 2015.

SANTOS, Evimar L dos, GAZZONI, A.F, WAGNER, C. Análise da microbiota aeróbica endodôntica de dentes com e sem lesão periapical. **Rev Ciênc Saúde**, v.17, n. 1, p. 33-39, jan-jun, 2015.

SEABRA, C.I.R. **Farmacocinética do Ibuprofeno**, 2015, 89. Dissertação (Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

SILVA, João M.F. et al. Erros cometidos por estudantes de Odontologia de uma universidade pública brasileira na realização de radiografias periapicais. **Rev da ABENO**, v.16. n.1. p.99-109, 2016.

SILVA, Ricardo N.F; PEREIRA, L.C.G. O uso de antiinflamatórios esteroidais e não esteroidais no controle da dor e do edema em cirurgia de terceiros molares. **Rev. Bahiana de Odontologia** , 7 (1) p. 31-39, Mar 2016.

SOUZA, Fernanda C.B. de; SILVA, M.Z.M da. Controle do processo inflamatório na odontologia com anti-inflamatórios não esteroidais. **Rev. Uningá**, v.20, n.2, p. 35-42, 2014.

SOUZA-JÚNIOR, U. P.; PEREIRA, J. V.; CAVALVANTI, T. M.; MELO, C. A. D. Drugs evaluation in odontology: na approach to public health. **Rev. Bras. Farm.**, v.90, n.2, p.109-111, 2009.

TEIXEIRA, R. C. et al. Radiological and histopathological evaluation of experimentally-induced periapical lesion in rats. **J Appl Oral Sci**, v. 19, n. 5, p. 500-4, Oct 2011.

TREMEA, F.C. et al. Prevalência de lesões periapicais observadas em radiografias panorâmicas. **J of Oral Investigations**, v. 6, n. 1, p. 29-37, Passo Fundo Jan.-Jun., 2017.

VACHON, P. et al. A pathophysiological study of abdominal organs following intraperitoneal injections of chloral hydrate in rats: comparison between two anaesthesia protocols. **Lab Anim**, v. 34, n. 1, p. 84-90, Jan 2000.

VELLOSO, M.P. et al. Interdisciplinaridade e formação na área de saúde coletiva. **Trab Educ Saúde**, Rio de Janeiro v. 14 n. 1, p. 257-271, jan-abr. 2016.

WIBAWA, J. I. et al. Measurement of amoxicillin in plasma and gastric samples using high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v. 774, n. 2, p. 141-8, Jul 15 2002.

ANEXOS



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA DO USO DE ANIMAL

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo CEUA – 012/2016

Protocolo UEPG – 4184/2016

Título - “Projeto de pesquisa “Avaliação dos efeitos do ibuprofeno na concentração sérica e tecidual de amoxicilina em ratos com lesão periapical induzida”

Interessada: Profa. Dra. Márcia Thais Popchapski

Data de Entrada – 11/05/2016

Resultado: Aprovado

Data/Prazo – 11/05/2016 a 11/05/2018

Considerações

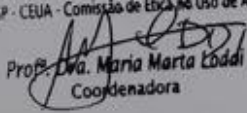
Prezada Professora Dra. Márcia Thais Popchapski

Em relação á utilização de animais no protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade, a CEUA deliberou pela sua aprovação, por dois anos, a utilização vinte e oito ratos Wistar, machos, com peso entre 150-200 g.

Ponta Grossa, 11 de maio de 2016.

Atenciosamente.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROESP - CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais


Prof. Dra. Maria Marta Eddi
Coordenadora