

ONDINA DE SOUZA TERRA

**INFLUÊNCIA DA CLOREXIDINA NA RESPIRAÇÃO DE
TECIDO GENGIVAL BOVINO. Estudo "in vitro".**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, para obtenção de Grau de Mestre em Ciências. (Farmacologia Aplicada à Clínica Odontológica).

PIRACICABA

- 1981 -

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL**

À saudosa vovô

e

À minha mãe

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A PROF.^A DR.^A MARIA DE LOURDES GARBOGGLI
NI DA GAMA, SINCERO AGRADECIMENTO PE-
LA AMIZADE E DEDICADA ORIENTAÇÃO DES-
TA PESQUISA.

AO PROF. DR. ANTONIO CARLOS NEDER, DD,
DIRETOR DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
PIRACICABA - UNICAMP, PELA OPORTUNIDA
DE QUE NOS OFERECEU PARA A REALIZAÇÃO
DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLO
GIA E REALIZAÇÃO DESTE TRABALHO.

AGRADEÇO AO DR. AMADO LEONISIO DE AZEVEDO, PROFESSOR DA ÁREA DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA, DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA, PELO DESPRENDIDO APOIO E COLABORAÇÃO CONSTANTES PRESTADOS DURANTE A REALIZAÇÃO DESTE TRABALHO,

AO PROF. DR. EUCLIDES MAGALHAES DA SIL
VEIRA, TITULAR DA DISCIPLINA DE FISIO-
LOGIA, DA ESCOLA DE FARMÁCIA E ODONTO-
LOGIA DE ALFENAS, MG, PROFUNDO E RECO-
NHECIDO AGRADECIMENTO, PELO APOIO E
HONROSA ACOLHIDA COMO AUXILIAR DE ENSI
NO NAQUELA DISCIPLINA, NOS DISTINGUIN-
DO COM USA INDISPENSÁVEL CONFIANÇA.

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Prof. Dr. Vinio Barbosa Tamburini, DD. Diretor da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela solidariedade demonstrada.
- Ao Prof. Dr. Hélio de Souza, Chefe do Departamento de Prótese, pela colaboração e apreço demonstrados durante o curso de Pós-graduação.
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pesquisa de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio concedido durante parte da realização deste trabalho.
- Ao Frigorífico Angelleli, pela cessão do material utilizado na pesquisa.
- À Prof.^a Dr.^a Sônia Vieira, do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela execução da análise estatística.
- Aos Prof.^s Dr.^s da Área de Farmacologia e Terapêutica: Thales Rocha de Mattos Filho, Samir Tufic Arbex, José Ramali, Jonas Vaz Arruda, Eduardo Dias de Andrade, pela atenção e gratificante amizade.
- Ao Dr. Vinicius Vieira Vignoli, Professor da Área de História, da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela solidariedade humana.

- Ao Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, Assistente da Área de Bioquímica, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela atenção solícita demonstrada no decorrer do curso.
- Ao Prof. Antelmo Veríssimo Bueno, Assistente da Área de Anatomia, da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo incentivo e amizade.
- À Sr.^a Ivany G. Gerola, Bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo valioso auxílio na correção da revisão bibliográfica.
- À Sr.^a Sônia Maria Aparecida Simionato Victória, pela atenção dispensada durante o decorrer de todo o curso.
- À Prof.^a Maria da Conceição Rocha, do Departamento de Odontologia Social da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela simpática acolhida.
- À Dr.^a Luzia da Silva Barroso, Ex-secretária da Faculdade de Odontologia de Alfenas, pela solidariedade.
- Aos Colegas do Curso de Pós-Graduação pela amizade.
- Ao Prof. Ulisses de Oliveira Martins e Srta. Maria de Fátima de Souza Dantas, pela execução dos gráficos do presente trabalho.
- Ao Sr. Moisés José Maria da Silva, pela atenção dispensada.
- Ao Sr. Sydney Barbosa de Souza, Chefe do Laboratório de Prótese, pela colaboração, em parte, no desenvolvimento dos trabalhos práticos.

Í N D I C E

	Pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - PROPOSIÇÃO	12
3 - MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 - Material Utilizado	15
3.2 - Obtenção do Material	15
3.3 - Transporte do Material	16
3.4 - Obtenção das Fatias de Tecido Gengival	16
3.5 - Respirometria	17
3.6 - Sequência do Experimento	17
3.7 - Sistematização da Experiência	18
3.8 - Determinação da Massa Seca	20
3.9 - Drogas Utilizadas	21
3.10 - Métodos Estatísticos	21
4 - RESULTADOS	22
5 - DISCUSSÃO	32
6 - CONCLUSÕES	39
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 - INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

Na atualidade, a fase meramente Restauradora em Odontologia está superada pela maior ênfase que se tem dado à fase Preventiva.

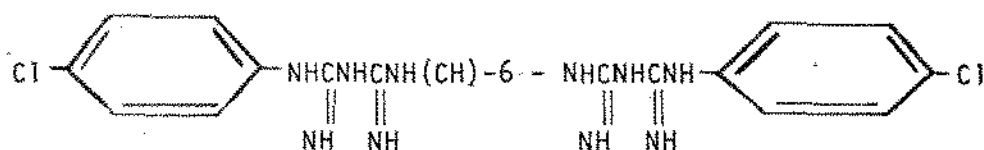
A placa dental é considerada pelos pesquisadores como estrutura de fundamental significância na indução do processo da cárie e da doença periodontal. Desta maneira surgiu a necessidade de se evitar o desenvolvimento da mesma, para prevenir o aparecimento das afecções orais acima descritas.

A partir daí, tem sido uma constante, por parte dos estudiosos, a procura de substâncias químicas específicas que possam inibir a proliferação e organização dos agentes formadores da placa bacteriana.

Atualmente, a clorexidina tem sido um dos agentes mais largamente empregados na clínica Odontológica, com essa finalidade, pela acentuada eficácia antibacteriana que possui. Esse composto tem despertado grande interesse por parte

dos pesquisadores, o que se pode comprovar pela publicação de numerosos trabalhos sobre o assunto.

Segundo FOULKES em 1973, os Laboratórios da Imperial Chemical Industries, (I.C.I.), da Inglaterra, em 1940, na pesquisa em busca de diversos agentes anti-vírus, sintetizaram um polímero biguanídeo chamado Clorexidina, cuja fórmula é a seguinte:



Esse agente é uma base forte, estável sob a forma de sal, sendo o digluconato de clorexidina o mais utilizado por apresentar maior solubilidade na água. A clorexidina, como outros compostos similares, não apresentou as propriedades anti-vírus desejadas, não tendo sido por isso posta em uso. Mas em 1953, ao serem observadas suas excelentes propriedades antibacterianas, foi comercializada na Inglaterra com a marca "Hibitane". Desde então, a clorexidina tem sido amplamente utilizada em infecções dermatológicas, ferimentos, infecções da garganta, obstetria, esterilização de instrumental cirúrgico, endodontia, desinfecção geral em hospitais e ainda em veterinária.

DAVIES e cols., em 1954, ressaltaram que a clorexidina, além de eficaz contra bactérias Gram-positivas e

Gram-negativas, apresenta também a característica de não provocar resistência bacteriana. Constataram ainda a sua baixa toxicidade e a ausência de efeito colateral, quando ingerida por animais de laboratório.

FLOTRA, em 1973, relatou que o Índice de placa era reduzido com o uso clínico da clorexidina em diferentes modos de aplicação. O emprego desse agente, em solução sob forma de bochechos, pode curar gengivite superficial, mas não tem o mesmo efeito sobre periodontites estabelecidas com formação de bolsa. A higiene oral, convenientemente supervisionada, com emprego de dentifrício à base de clorexidina, em crianças epilêpticas, reduziu o índice da placa nas faces interproximais, devido à ação direta nas áreas onde se faz mais necessário. O experimento demonstrou, ainda, que o uso da clorexidina gel, durante o período de quatro semanas, reduziu o índice de placa para 1/3 (um terço). Quanto aos efeitos colaterais, do emprego do gel e do dentifrício, podem estes provocar descoloração nos dentes, sensação de dor e secura na boca, sintomas que podem ocorrer sem muita frequência.

Em estudos realizados por LOE e cols., em 1976, foram observadas os efeitos provocados pela clorexidina, usada em aplicações diárias, durante um período de mais de dois anos.

Dos dois grupos de estudantes que participaram da pesquisa, aquele que se submeteu ao uso diário de solução de digluconato de clorexidina a 0,2% , somado à escovação e

limpeza interdental, apresentou uma redução no índice da placa bacteriana e da gengivite, em comparação com o grupo controle, que não usou clorexidina.

Ainda em 1976, RINDOM-SCHIOTT e cols., estudando os efeitos do uso prolongado da clorexidina sobre vários parâmetros médicos no homem, não observaram nenhuma alteração relativa à taxa de hemoglobina, metahemoglobina, velocidade de sedimentação, número de eritrócitos e de células brancas. Foram ainda examinadas a proteína, a glicose da urina, bem como as funções hepáticas e renais, que permaneceram inalteradas. Durante todo o curso do experimento, cada participante respondeu regularmente um questionário de saúde geral. Todos os resultados permaneceram dentro dos níveis normais.

LOE e col., em 1970, anunciaram que o uso do digluconato de clorexidina, na forma de bochechos, inibia totalmente o desenvolvimento da placa e da gengivite, e que o uso mais intensivo da droga, durante um período de cinco dias, removia gradualmente a placa já existente e eliminava a inflamação concomitante da gengiva.

Em longas experiências clínicas, FOULKES, em 1973, com testes prévios de toxicidade, estabeleceu que usualmente a clorexidina possui um baixo nível de toxicidade em animais de laboratório e no homem. Por esta razão inferiu-se que a avaliação clínica da clorexidina na higiene oral pode prosseguir com grande segurança.

Foi demonstrado por RINDOM-SCHIOTT e cols., em 1976, que o tratamento com clorexidina por um grupo de indivíduos, durante dois anos consecutivos, acarretou uma mudança seletiva na microflora salivar, resultando numa ligeira alteração na distribuição dos microrganismos que eram menos sensíveis à clorexidina. Essa mudança diminuiu após a cessação do tratamento.

Segundo ROLLA e cols, em 1971, a saliva impregnada de clorexidina a 0,2%, por meio de bochechos, conserva propriedade bactericida até duas horas após a higiene oral. Isto sugere que a marcada inibição da placa, já previamente relatada, é baseada no longo período de permanência da clorexidina, na cavidade oral, devido à sua adsorção pela superfície dos dentes, pelas proteínas salivares, membranas mucosas e placa dental. A quantidade dessa substância que é adsorvida libera-se lentamente, conferindo-lhe assim um efeito residual, além da sua ação imediata. Cessado o uso desse agente, a flora salivar retorna aos níveis pré-existentes e, dentro de 48 horas, a placa bacteriana reinicia seu curso normal.

Estudos clínicos realizados no homem durante longos períodos e relatados por LOE, em 1973, revelaram que o desempenho antibacteriano da clorexidina foi altamente satisfatório, e que a redução substancial do número de microrganismos orais, provocada pelo uso desse agente, é compatível com a saúde oral e sistêmica. Concluiu também que a clorexidina é pobremente absorvida, sendo quase toda ela eliminada pelas fe

zes. A pequena quantidade que atravessa a barreira epitelial é metabolizada pelas vias metabólicas usuais. Quanto à margem de segurança dessa substância, os testes mostraram que esse agente apresenta níveis extremamente baixos de toxicidade, tanto local como sistemicamente. Os estudos não revelaram alterações teratológicas e reprodutoras.

Em estudos sobre a dosagem ótima e modo de aplicação da clorexidina, CUMMING e col., em 1973, destacaram a vantagem prática de aumentar-se a quantidade da solução a ser usada, em vez de se aumentar a concentração de clorexidina exigida para controlar a formação da placa. Foram comparados os resultados da aplicação dessa solução com auxílio de irrigador oral e bochecho normal. Os estudos mostraram volumes maiores de solução, usados com concentrações mais baixas de clorexidina, são suficientes para inibir a formação da placa na porção posterior da cavidade oral, quando administrado com auxílio de irrigador, em vez de lavagens normais.

Para estudar as possíveis mudanças na estrutura da mucosa oral humana, resultantes da exposição à clorexidina, MACKENZIE e cols., em 1976, examinaram amostras de mucosa gengival e palatal, obtidas de indivíduos adultos. Verificaram que as amostras examinadas apresentavam evidência de queratinização, e concluíram que os espécimes palatais foram mais frequentemente ortoqueratinizadas do que as gengivais. A largura média das amostras do estrato córneo de gengiva foi aproximadamente 13 μm , e de amostras palatais, de 23 μm .

Também o número médio de camadas de células no estrato córneo da gengiva foi menor do que no palato.

A propriedade fungicida da clorexidina foi demonstrada por BUDTZ e col., em 1972, quando verificaram a sua eficiência contra *Candida albicans*, nos casos de estomatites provocadas por dentaduras.

As experiências realizadas por GJERMO, em 1974, sobre uso da clorexidina no tratamento da GUNA, revelaram que, logo no segundo dia de uso dessa substância, a gengiva marginal e a papila interdental se apresentaram menos dolorosas, permitindo a higiene oral do paciente.

Segundo SANTOS (1981), nenhum quadro clínico foi apresentado, até agora, que evidenciasse sintomas alérgicos relativos ao uso da clorexidina.

HUGO e cols., em 1966, em estudos sobre o mecanismo de ação da clorexidina, afirmaram que, em condições de pH fisiológico, esse agente tem afinidade com as bactérias, devido à interação entre a positividade da molécula do composto e a negatividade dos grupos fosfatados da parede celular bacteriana. Esse fenômeno causa dano à membrana citoplasmática, provocando precipitação virtual da pentose e do fósforo e assim impedindo a restauração das membranas, o que por si só ocasiona como consequência a morte dos microrganismos.

Neste estudo adotou-se a técnica manométrica de Warburg para a determinação do consumo de oxigênio. De acordo com UMBRIET (1951), a técnica baseia-se no fato de que, a uma dada temperatura e mantendo-se constante o volume de um gás, qualquer modificação na quantidade desse gás pode ser medida pelas variações da pressão que ele apresentar.

Os valores resultantes do consumo de oxigênio são principalmente expressos como quocientes metabólicos (QO_2), os quais fornecem a quantidade de oxigênio em microlitros consumidos, por um miligrama de peso seco de tecido, por hora.

Foi verificado por FISHER e col. (1961), que embora o QO_2 não especifique detalhes bioquímicos, ele expressa, de uma maneira geral, alguns aspectos superficiais do metabolismo respiratório. Ele é mais especialmente usado para indicar o caráter de substâncias nutricionais, que sofrendo oxidação intracelular, fornecem uma relação numérica entre a quantidade de O_2 consumido e o CO_2 excretado.

ZAJČEK e KINDLOVÁ (1972), baseados em trabalhos anteriores, reafirmaram tornar-se possível, na respirometria, avaliar a intensidade do metabolismo respiratório no interior dos tecidos, de acordo com os valores de oxigênio consumido.

GANGAROSA e cols. (1971), determinaram a atividade respiratória do epitélio gengival bovino sob três condições de preparação do tecido: 1) com fatias totais pequenas cortadas com tesoura; 2) com fatias finas obtidas pelo mi-

crômomo Stadie-Riggs ; 3) com um homogenado. Verificaram que os valores de QO_2 encontrados nestas preparações de tecido foram: fatia original = 0,86 ; fatias Stadie-Riggs = 0,58 ; homogenado = 0,33 = de O_2 /mg/h. Destas preparações, os homogenados são os mais próprios para os estudos bioquímicos, porque são facilmente manipulados e retêm cerca de 40% do quociente respiratório do material original.

BERGQUIST e cols., em 1980, estudando o consumo de oxigênio endógeno pela mucosa alveolar bovina, constataram que a média de consumo de QO_2 foi de: 0,88 ; 0,39 e 2,08 μ l de O_2 /mg/h , respectivamente, para mucosa alveolar, tecido conjuntivo da mucosa alveolar e epitélio da mucosa alveolar.

Estudando a ação da difenilhydantoína sobre a respiração do tecido gengival bovino, BOABAID e col. (1978), obtiveram um resultado de $0,56 \pm 0,15$ microlitros de oxigênio endógeno, consumido por miligrama de tecido em peso seco, por hora.

Utilizando o método preconizado por KIRK (1950) e MANHOLD e col. (1960), usaram pequenas quantidades de tecidos, com aproximadamente 10 mg de peso úmido, para determinação de QO_2 . Verificaram que as 36 amostras de tecido gengival humano, submetidas à respirometria, apresentaram um QO_2 médio igual a $1,39 \pm 0,46$ μ l/mg/h , valores comparáveis a resultados anteriormente relatados.

As pesquisas realizadas por MORGAN e col. (1966), sobre o consumo de O_2 da gengiva humana, revelaram que esse tecido possui uma pequena taxa respiratória. Entretanto, a presença de inflamação nesse tecido provoca um aumento no gasto de O_2 , com excessão feita aos tecidos com predominante degeneração.

Segundo GLIKMAN e cols. (1949), o consumo de O_2 pela gengiva humana sadia é mensurável pela técnica manométrica de Warburg. Constataram que em gengiva com inflamação crônica, proliferação do tecido conjuntivo e epitelial, há uma tendência para o aumento do consumo de O_2 em comparação com gengiva sadia. Na gengiva essencialmente degenerada e necrótica foi verificada uma tendência para a diminuição deste consumo.

Em 1968, LAISON e cols. mediram o consumo de O_2 em gengiva aderida bovina, encontrando resultados de 1,56; para o epitélio gengival encontraram 2,09; para o tecido conjuntivo gengival foi 0,69; para o tecido conjuntivo gengival foi 0,69 l/mg/h. A temperatura foi $38^{\circ}C$ e a fase gasosa, oxigênio. As medidas do consumo de oxigênio foram feitas pelo método direto de Warburg.

MANHOLD e col. (1963), estudando a utilização de oxigênio nas diversas fases da inflamação e reparação do tecido gengival humano, concluíram que a utilização do oxigênio é muito maior na fase pré-proliferativa e proliferativa com reparação tecidual do que na fase degenerativa.

2 - PROPOSIÇÃO

2 - PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem por objetivo verificar quantitativamente o consumo de oxigênio na respiração do tecido gengival bovino "in vitro", sob a influência da cloroxídina e Plak Out.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - MATERIAL UTILIZADO

Utilizou-se tecido gengival bovino obtido de a nimais de três a quatro anos, abatidos por atordoamento e sangria, procedimento que evitou reações defensivas que incluíssem modificações metabólicas. O material foi fornecido pelo Frigorífico Angelelli, de Piracicaba, SP.

3.2 - OBTENÇÃO DO MATERIAL

Imediatamente após o abate, retirou-se, da mandíbula, tecido gengival de aproximadamente 5 a 10 gramas. A área utilizada para a obtenção do material foi sempre a região direita dos incisivos laterais.

3.3 - TRANSPORTE DO MATERIAL

O material obtido foi imediatamente acondicionado em frascos, contendo solução fisiológica a baixa temperatura. A seguir, esses frascos foram colocados em um recipiente isotérmico contendo gelo, e dessa forma transportados para os laboratórios da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

3.4 - OBTENÇÃO DAS FATIAS DE TECIDO GENGIVAL

No laboratório, tomou-se o cuidado de manter o tecido sempre mergulhado em solução fisiológica a baixa temperatura, a fim de inibir as possíveis reações enzimáticas que pudessem ocorrer, enquanto se procediam as etapas recomendadas pela técnica de Warburg. Sob essas condições, o tecido gengival foi cortado com uma tesoura, a fim de se obter em fatias de tecido, segundo o método preconizado por PAUL (1961) e usado por AYRES (1965) e SAHADE (1970). O material assim preparado foi lavado três vezes, em solução fisiológica à baixa temperatura, com a finalidade de eliminar o maior número possível de hemácias que pudessem interferir nos resultados do experimento.

A quantidade de tecido utilizado foi de 0,7 ml, correspondendo aproximadamente a 500 mg de massa úmida de tecido, quantidade essa recomendada por HYSHER (1973). Essas porções de tecido foram medidas com o auxílio de colheres plás

ticas, perfuradas para remover a solução fisiológica remanescente.

3.5 - RESPIROMETRIA

O experimento foi realizado pela técnica manométrica de Warburg (método direto) a 37°C , com agitação de 80 ciclos por minuto. Como fase gasosa foi usado o ar atmosférico.

3.6 - SEQUÊNCIA DO EXPERIMENTO

As fatias de tecido foram colocadas no compartimento principal dos frascos de Warburg juntamente com 2,5 ml de solução de Krebs-Ringer-Fosfato. No interior do poço central de cada frasco foram colocados 0,2 ml de solução de KOH a 20% juntamente com pedaços enrolados de papel de filtro para absorção de CO_2 formado durante a respiração do tecido. Durante esta fase do preparo experimental, os frascos foram sempre mantidos em recipientes contendo gelo.

Antes de serem feitas as leituras manométricas, tomou-se o cuidado de se determinar o pH inicial de cada tratamento.

Após o preparo dessa fase do experimento, os frascos referentes a cada tratamento foram conectados aos res

pectivos manômetros e colocados no aparelho de Warburg, à temperatura de 37°C , com agitação de 80 ciclos por minuto, e af deixados por 20 minutos, para homogeinização, antes de se proceder à primeira leitura. Esse cuidado foi tomado para que se estabelecesse igualdade de temperatura entre o banho e os tratamentos, além de favorecer um maior contato das fatias do tecido com o meio de suspensão.

As leituras manométricas foram feitas a intervalos de 15 minutos, num total de duas horas.

3.7 - SISTEMATIZAÇÃO DA EXPERIÊNCIA

Cada tratamento, com volume total de 3,6 ml, foi estabelecido da seguinte forma:

a - Solução tampão Krebs-Ringer-Fosfato pH 7,4 (DAWSON e col., 1959)	2,5 ml
b - Massa úmida de tecido gengival bovino	0,7 ml
c - Solução de Hidróxido de Potássio (KOH) a 20%	0,2 ml
d - Componente variável conforme o tratamento ...	0,2 ml
Volume total	3,6 ml

TRATAMENTOS

O experimento constou dos seguintes tratamentos:

Tratamento 1 - Endógeno:

a + b + c + 0,2 ml de solução tampão Krebs-Ringer-Fosfato.

Tratamento 2 - Glicose:

a + b + c + 0,2 ml de solução de glicose.

Tratamento 3 - Glicose + Clorexidina:

a + b + c + 0,2 ml de solução de glicose + 0,2 ml de solução de clorexidina.

Tratamento 4 - Clorexidina:

a + b + c + 0,2 ml de solução de clorexidina.

Tratamento 5 - Glicose + Plak Out:

a + b + c + 0,2 ml de solução de glicose + 0,2 ml de solução de Plak Out.

Tratamento 6 - Plak Out:

a + b + c + 0,2 ml de solução de Plak Out.

No tratamento 1 (Endógeno), foram usados dois frascos. No tratamento 4 (Clorexidina), foram usados quatro frascos com clorexidina, e no tratamento 6 (Plak Out), três frascos em cada repetição do experimento.

Foram feitas vinte repetições experimentais, com um total de 240 leituras manométricas.

Após as observações manométricas, foram realizadas as seguintes operações, em cada um dos frascos dos diferentes tratamentos:

- 4228/BC
- a - retirada do papel de filtro embebido com KOH, por meio de pinça;
 - b - lavagem do poço central com algodão estéril embebido em água destilada;
 - c - determinação dos valores dos pHs finais no líquido sobrenadante (meio de suspensão);
 - d - transferência do material para cadinhos de porcelana.

3.8 - DETERMINAÇÃO DA MASSA SECA

Para a determinação da massa seca, o material contido no cadinho de porcelana foi mantido em estufa a 100°C, durante 48 horas, esfriado em dessecador e pesado em balança analítica, Mettler, do tipo H15, com sensibilidade de um décimo de miligrama.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

3.9 - DROGAS UTILIZADAS

a -	Gluconato de Clorexidina	0,2%
b -	Plak Out ^(R) (Have Neos Dental Dr. H. V. Wels senfluh S/A)	0,2%
c -	Hidróxido de Potássio P.A. (Reagen-Quimbrás Ind. Químicas Ltda)	20%
d -	Glicose P.A. (Proquil - Produtos Químicos e Equipamentos para Laboratório Ltda.)	20 µM/ml
e -	Cloreto de Sódio P.A. (Quimbrás Ind. Quími- cas Ltda)	0,9%
f -	Cloreto de Potássio (Quimbrás Ind. Químicas Ltda)	1,15%
g -	Cloreto de Cálcio (Merk Brasil S/A Produtos Farmacêuticos)	1,12%
h -	Sulfato de Magnésio (Quimbrás Ind. Químicas Ltda)	3,8%

3.10 - MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Os dados obtidos, relativos à influência da clorexidina sobre a respiração do tecido gengival, foram submetidos a uma análise de variância, a fim de serem comparadas as médias de QO_2 dos diferentes tratamentos. A partir desta análise para comparação das médias, duas a duas, as mesmas foram submetidas a um teste de Tukey.

4 - RESULTADOS

4 - RESULTADOS

Os valores médios de QO_2 , obtidos em intervalos de 15 minutos durante duas horas sob os tratamentos: endógeno, glicose, glicose + clorexidina, glicose + Plak Out, clorexidina e Plak Out, estão apresentados na Tabela 1.

Os dados da Tabela 1 foram submetidos a uma análise de variância com dois critérios, isto é, tratamento e tempos. Os resultados dessa análise estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 1 - Valores médios de QO_2 de tecido gengival bovino, segundo o tempo e tratamento

Tempo em minuto	Endógeno	Glicose	Glicose + Clorexidina	Glicose + Plak Out	Clorexidina	Plak Out
15	0,243	0,283	0,272	0,265	0,250	0,285
30	0,372	0,505	0,457	0,430	0,390	0,426
45	0,465	0,653	0,607	0,594	0,537	0,546
60	0,595	0,798	0,726	0,655	0,652	0,627
75	0,753	0,951	0,856	0,759	0,746	0,729
90	0,838	1,035	0,861	0,818	0,801	0,778
105	0,927	1,149	1,029	0,896	0,874	0,839
120	1,046	1,383	1,206	1,027	0,958	0,907
Médias	0,6549	0,8446	0,7518	0,6805	0,6510	0,6421

TABELA 2 - Análise de variância dos dados apresentados na Tabela 1

Causa de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Tratamentos	5	0,2533	0,0507	15,8438 *
Tempos	7	3,1625	0,4518	141,1875 *
Resíduo	35	0,1125	0,0032	
Total	47	3,5283		

G. L. = Graus de Liberdade

S. Q. = Soma dos Quadrados

Q. M. = Quadrados Médios

F = Teste F

(*) = Significativo ao nível de 5% de probabilidade

O valor de F , relativo a tratamentos, é significativo ao nível de 5%. Assim, as médias de tratamentos foram submetidas ao teste t , de Tukey, para comparação de médias, duas a duas.

A diferença mínima significativa (D.M.S.), ao nível de 5% , estabelecida pelo teste t de Tukey, é 0,091.

A fim de se proceder à comparação de médias, e laborou-se a Tabela 3 , onde estão apresentadas as diferenças de médias e assinaladas as diferenças significantes.

TABELA 3 - Valores absolutos das diferenças entre pares das médias de QO_2

Tratamentos	Médias	Glicose	Glicose + CH	Glicose + PO	CH	PO
Endógeno	0,6549	0,1897 *	0,0968 *	0,0252	0,0039	0,0128
Glicose	0,8446	---	0,0928 *	0,1641 *	0,1936 *	0,2025 *
Glicose + CH	0,7517	---	---	0,0712	0,1007 *	0,1096 *
Glicose + PO	0,6805	---	---	---	0,0295	0,0384
Clorexidina	0,6510	---	---	---	---	0,0089
	Médias	0,8446	0,7517	0,6805	0,6510	0,6421

CH = Clorexidina

PO = Plak Out

(*) = Significativo ao nível de 5% de probabilidade

Com base no teste \underline{t} de Tukey, verifica-se que:

- 1 - Em média, o QO_2 de tecido gengival bovino sob os tratamentos glicose mais clorexidina, é ao nível de 5%, significativamente superior ao QO_2 do endógeno.
- 2 - Os tratamentos glicose mais clorexidina ; glicose mais Plak-Out ; clorexidina e Plak-Out reduzem o QO_2 , quando comparados com o tratamento glicose, porque em média, o QO_2 do tratamento glicose é ao nível de 5%, significativamente superior aos tratamentos acima citados.
- 3 - Mesmo em presença da clorexidina, que tem efeito inibidor, a glicose leva a um aumento do QO_2 , porque, em média, o QO_2 no tratamento glicose mais clorexidina é significativamente maior do que no tratamento clorexidina.

Também pode-se afirmar, com base nos resultados da análise de variância (Tabela 2), que o tempo de observação tem efeito significativo, ao nível de 5% , sobre o valor do QO_2 . Para melhor visualização desta afirmativa, aliada a informação sobre as diferenças entre tratamentos, foram construídos os curvogramas apresentados nas Figuras 1 , 2 , 3 e 4 .

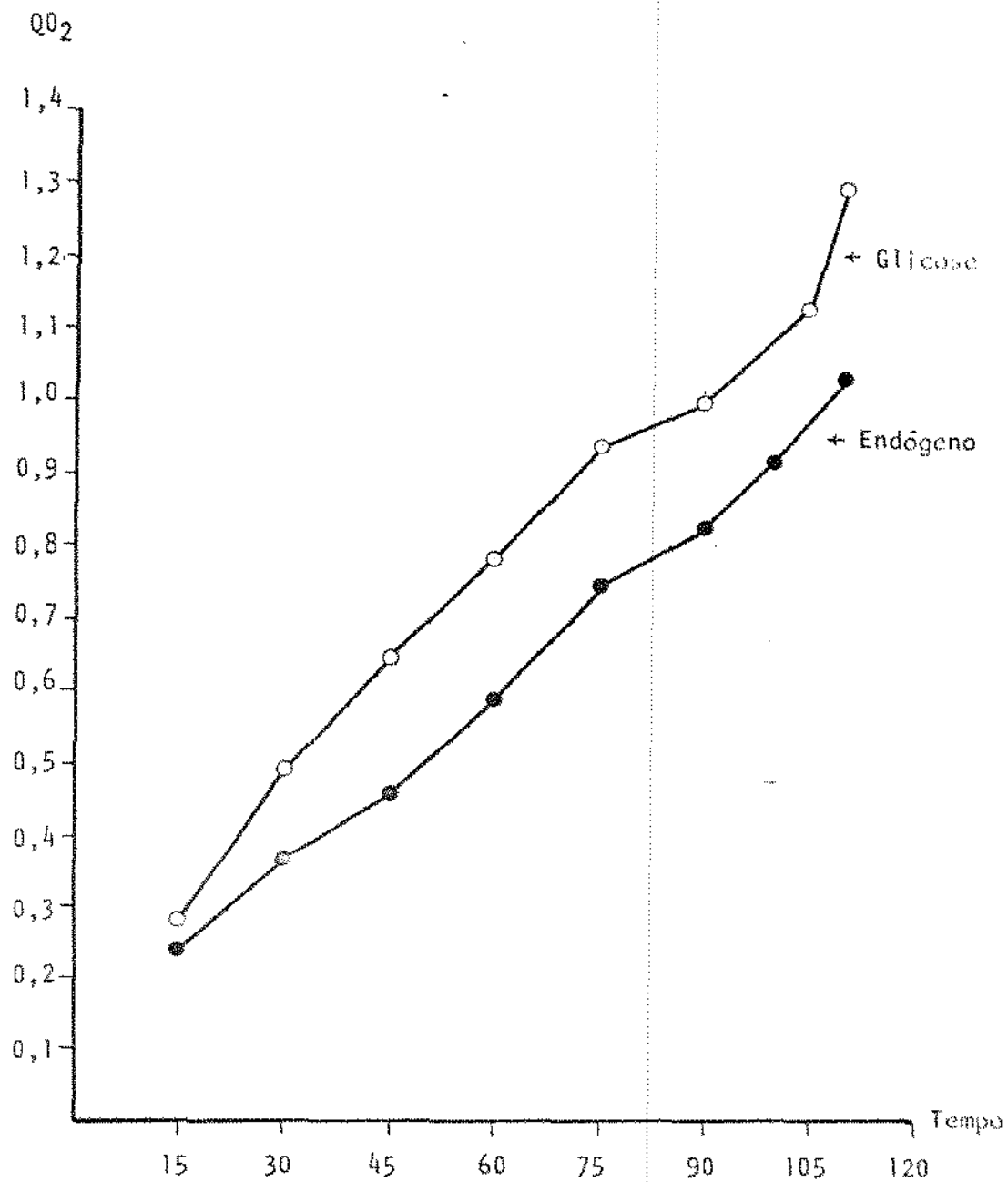


FIGURA 1 - Curvograma relativo aos valores médios de QO_2 em função do tempo, em glicose e endógeno.

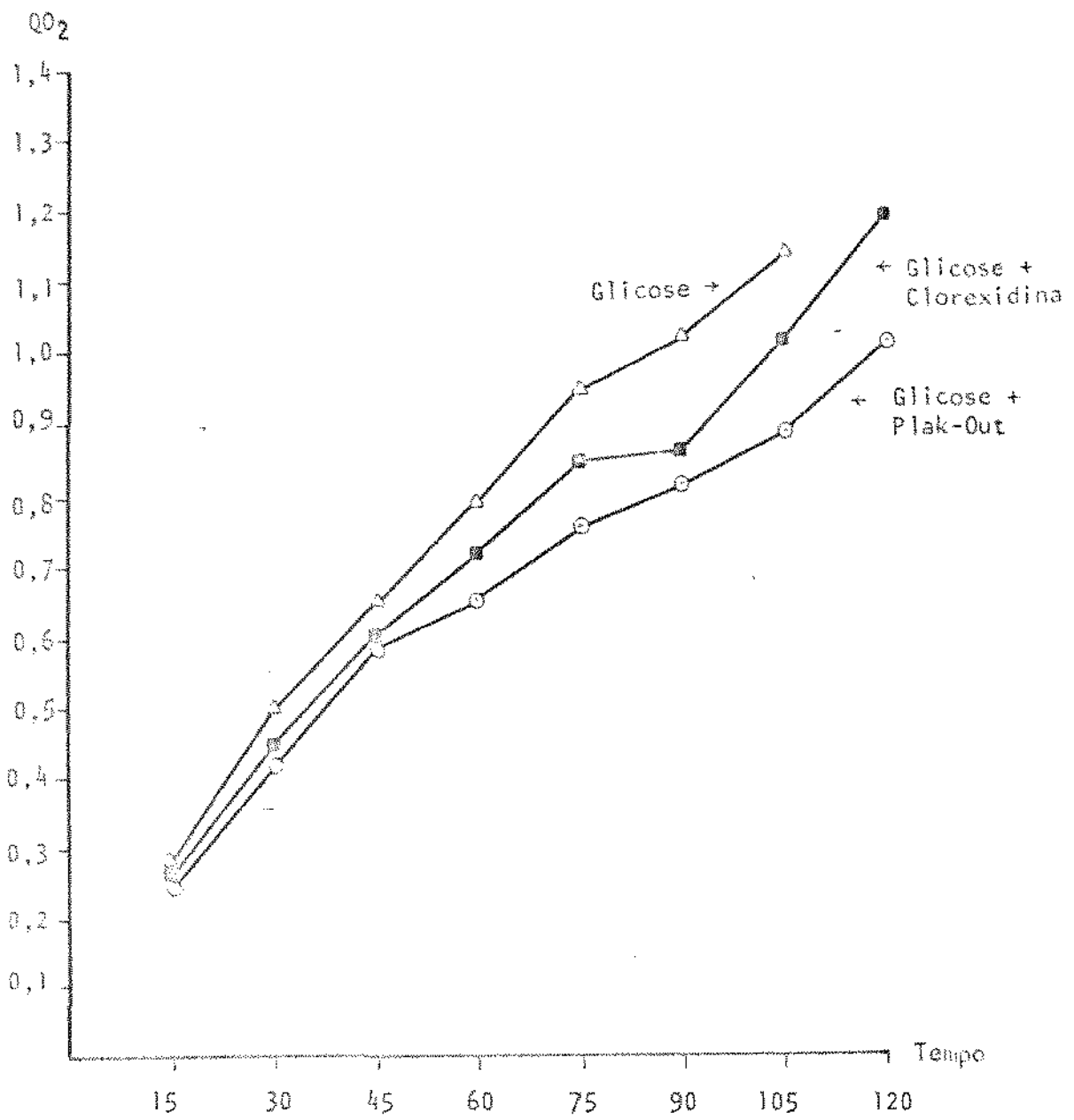


FIGURA 2 - Curvograma relativo aos valores médios de CO₂ em função do tempo em glicose, glicose + clorexidina e glicose + Plak Out.

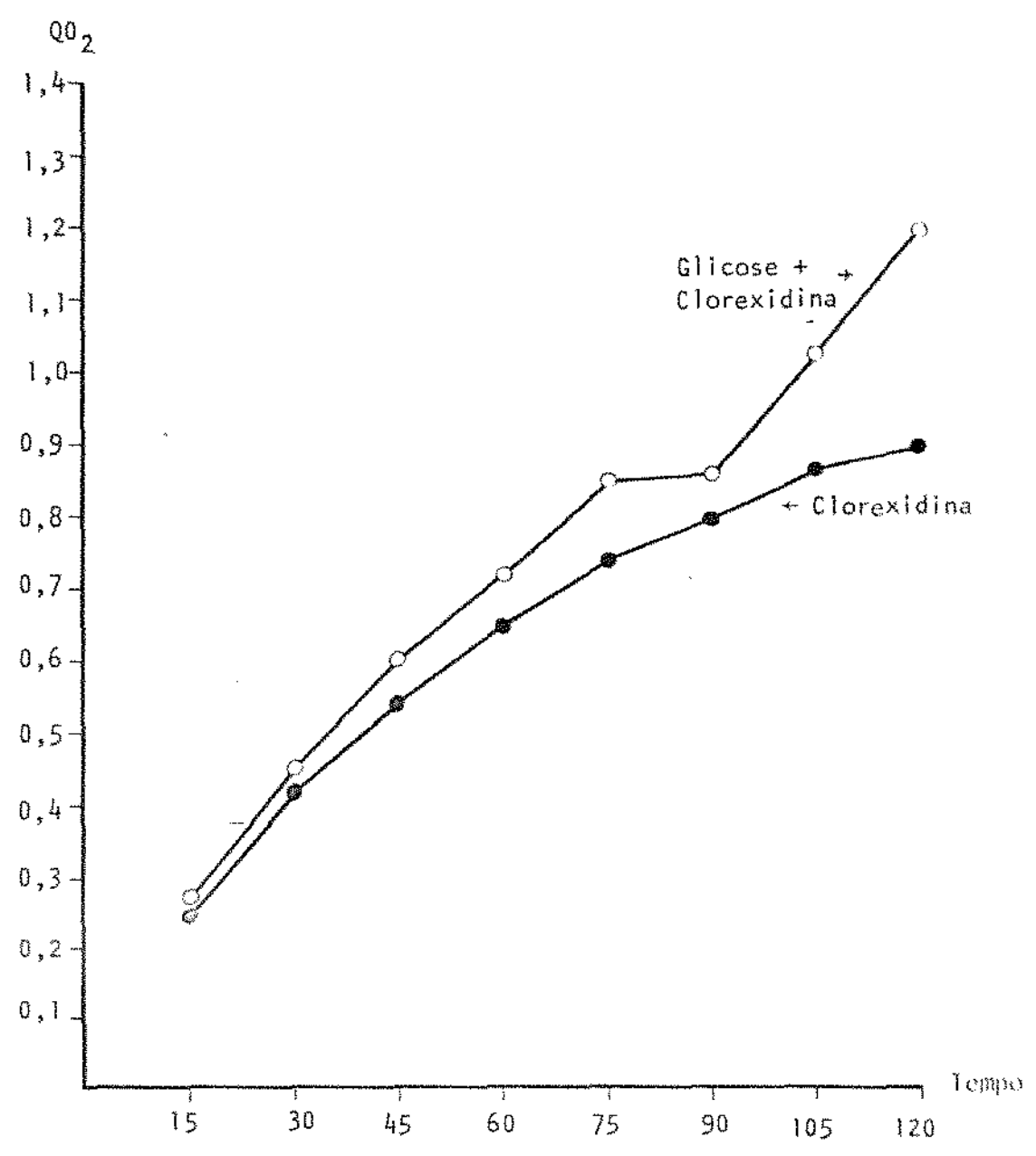


FIGURA 3 - Curvograma relativo aos valores médios de QO₂ em função do tempo em glicose + clorexidina e clorexidina.

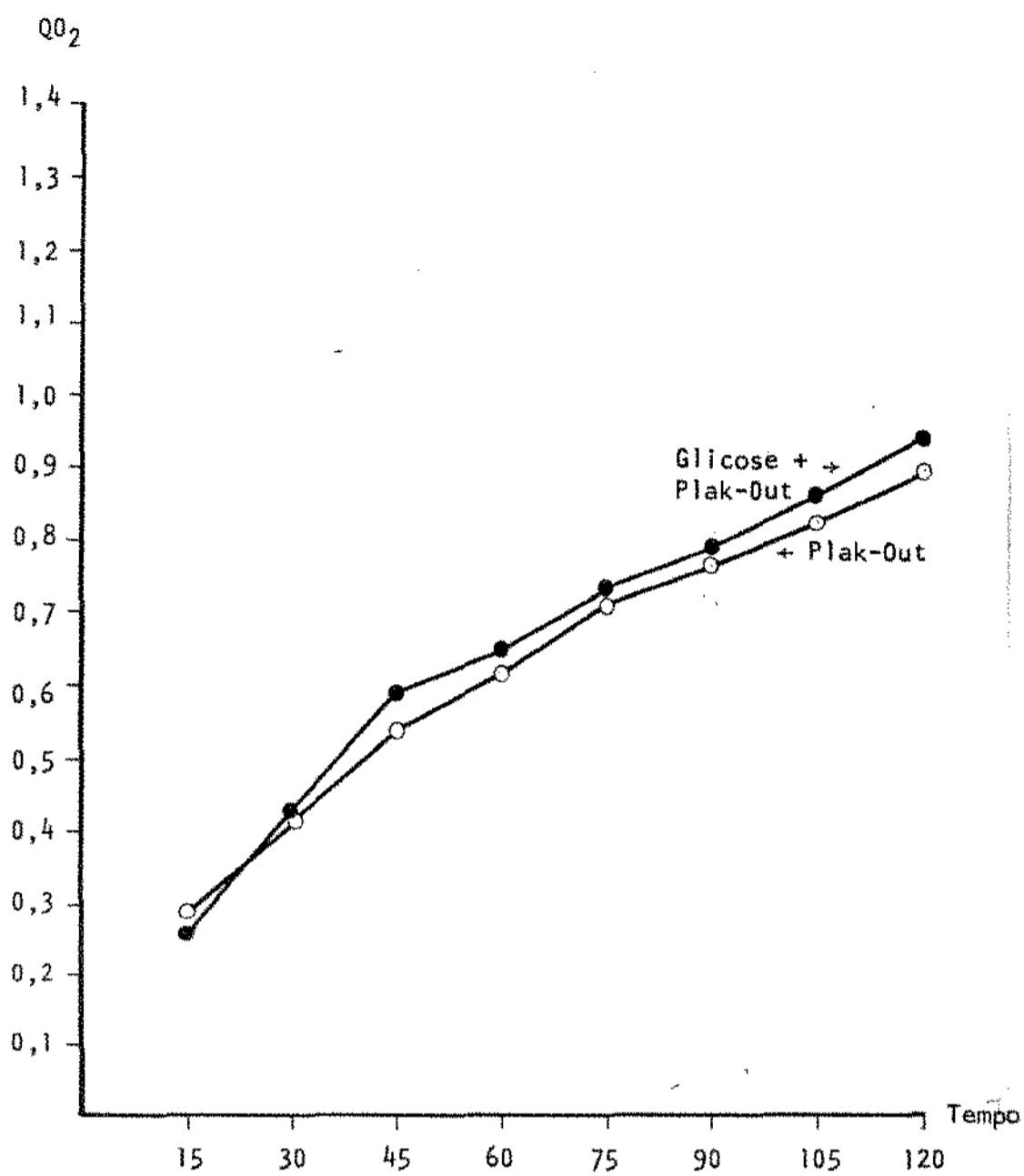


FIGURA 4 - Curvograma relativo aos valores médios de QO_2 em função do tempo, em glicose + Plak Out e Plak Out.

5 - DISCUSSÃO

5 - DISCUSSÃO

Pelo exposto na introdução, pode-se avaliar a dificuldade que tivemos em discutir nossos resultados, quando os comparamos com aqueles obtidos pelos autores que anteriormente estudaram a clorexidina.

Para realização desta pesquisa, a maioria dos trabalhos citados serviu mais propriamente de orientação, do que para comparação com nossos resultados, tendo em vista que não encontramos nenhuma pesquisa com os mesmos métodos e objetivos da nossa.

Se por um lado, utilizamos o mesmo método respirométrico de Warburg utilizados por GLICKMAN e col. (1949); FISHER e col. (1957 e 1961); MONHOLD e col. (1963); MORGAN e col. (1966); LAISON & FISHER (1968); GANÇAROSA e col. (1971); BOABAID e col. (1976); BERQUIST & FISHER (1970), por outro lado, não foi possível comparar todos os resultados

com os nossos, tendo em vista que estes autores pesquisaram respiração do mesmo tecido, porém utilizando substâncias outras, que não a clorexidina.

Assim sendo, neste capítulo limitar-nos-emos a penas a ressaltar os valores diferenciais que julgamos de maior importância.

No presente estudo, escolheu-se a metodologia proposta por ser ela exequível em nosso meio e por se entender que pode proporcionar uma visão clínica do problema.

Diversos autores observaram valores diferentes para o consumo de oxigênio de um mesmo tecido. Assim DIXON & MEYER (1936), publicaram um trabalho onde determinaram, com tecido cerebral homogeneizado, que porções distintas do cérebro mostraram diferentes consumos de oxigênio. O córtex cerebral mostrou maior atividade respiratória que outras porções do cérebro.

FLIEDER & FISHER (1955) e FISHER (1967) fizeram estudo do consumo de oxigênio em polpa dental bovina. Entretanto, o próprio FISHER (1967), mostrou o inconveniente da escolha desse tecido por apresentar variações do consumo de oxigênio conforme a região da polpa escolhida.

Para a nossa pesquisa, pelas razões apresentadas, o material foi retirado sempre do mesmo local (região dos incisivos laterais). A escolha do tecido gengival bovino ba seou-se nos seguintes critérios:

- a - fácil aquisição;
- b - obtenção fácil do tecido, não necessitando técnica especial,
- c - condições controladas de saúde dos animais.

A clorexidina, sintetizada em 1940, tem sido am plamente usada na Clínica Odontológica como agente bactericida para inibir a formação de placa bacteriana.

Já em 1954, DAVIES e cols. constataram que a clorexidina não provocava resistência bacteriana e que apresentava baixa toxicidade e ausência de efeito colateral, quando ingerida por animais de laboratório.

Comparando os resultados do endôgeno da Tabela 1 (pág. 24) com os trabalhos de LAISON & FISHER (1968); GAN GAROSA e col. (1971); BOABAID e col. (1976) e BERGQUIST & FISHER (1970), verifica-se que estes autores encontraram valores de QO_2 compatíveis aos nossos, utilizando a mesma metodologia e o mesmo tecido usados no presente trabalho.

Ainda dentro desta mesma metodologia encontra-se o trabalho de MANHOLD e col. (1960), que utilizaram tecido gengival humano.

A seguir, analisando-se os dados da Tabela 3 , que indicam os valores absolutos das diferenças entre pares das médias de QO_2 obtidas a partir da Tabela 1 , verifica-se que:

- 1 - O QO_2 do tecido gengival tratado com glicose apresentou-se significativamente maior, ao nível de 5% , quando comparado ao QO_2 do endógeno. Este resultado era esperado, uma vez que a glicose fornece condições para o melhor aproveitamento do oxigênio pelo tecido.
- 2 - O QO_2 do tecido gengival no tratamento com glicose + clorexidina, quando comparado ao QO_2 do endógeno, também apresentou-se significativamente maior ao nível de 5% , indicando que a glicose, mesmo em presença de clorexidina que tem um efeito inibidor, leva a um aumento do QO_2 .
- 3 - Já o QO_2 de tecido gengival sob a ação da glicose + Plak Out, em relação ao QO_2 do endógeno, não mostrou diferença significativa de resultado. Isto indica que o Plak-Out (PO) apresenta maior efeito inibidor da respiração do que a clorexidina em presença de glicose.
- 4 - Continuando a análise da Tabela 3, quando se comparam as diferenças de valores absolutos das médias de QO_2 do tecido gengival sob os tratamentos clorexidina e Plak-Out, em relação ao endógeno, pode-se verificar que também não houve diferença significativa ao nível de 5%.

- 5 - O QO_2 do tecido gengival, sob o tratamento com glicose, apresentou-se superior, com significância ao nível de 5%, quando comparado com o tratamento glicose + clorexidina, glicose + Plak-Out, clorexidina e Plak-Out.
- 6 - Quando se compara o tratamento glicose + Plak-Out com o tratamento glicose + clorexidina, verifica-se que a diferença de QO_2 entre os tratamentos não é estatisticamente significatne.
- 7 - Por esta mesma Tabela 3, ainda podemos comparar os tratamentos CH e PO com o tratamento glicose + clorexidina, observando que o QO_2 do tecido tratado com glicose + clorexidina foi significativamente maior que aqueles, ao nível de 5%.
- 8 - Comparando-se os tratamentos clorexidina e Plak-Out com o tratamento glicose + Plak-Out pode-se verificar que houve efeito significante ao nível de 5%.
- 9 - O mesmo acontece quando se compara o QO_2 de tecido gengival tratado com clorexidina, com o QO_2 do mesmo tecido, tratado com Plak-Out, isto é, não houve significância estatística na diferença constatada. Entretanto, nota-se que houve uma maior inibição respiratória no tratamento com Plak-Out do que quando o tratamento foi com clorexidina, conforme o valor absoluto (0,0089).

6 - CONCLUSÕES

6 - CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, julgamos válidas as seguintes conclusões:

A clorexidina e o Plak-Out não influenciaram significativamente a respiração de tecido gengival bovino "in vitro".

O Plak-Out deprimiu a atividade respiratória do tecido gengival bovino, mais do que a clorexidina.

Finalmente é razoável concluir que, ao utilizarmos clinicamente o Plak-Out, ocorra uma maior inibição da respiração bacteriana.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - AYRES, G. C. M. Determinação do consumo de oxigênio $QO_2 - QO_2^{(N)}$ em masseter, cérebro e polpa dental de suíno - "Sus scrofa domesticus, Gray". Influência do meio de suspensão, do teor de oxigênio da atmosfera e de tetraciclina, sobre a respiração "in vitro". Piracicaba, 1965. [Tese (Livre-Docência) - F.O.P.].
- 2 - BERQUIST, J. J. & FISHER, A. K. Endogenous consumption rates of bovine alveolar mucosa. J. dent. Res., 49 (6): 1522-6. Nov./dec. 1970.
- 3 - BOABAID, K. ; BRANDÃO, D. ; CURIAL, O. ; CAMPELLO, A. P. Respiration of bovine gingival epithelium action of diphenylhydantoin. J. Periodont. Res., 11(4): 230-4 July 1976.
- 4 - BUDTZ-JORGENSEN, E. & LOE, H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. Scand. J. dent. Res., 80: 457-63, 1972.

- 5 - CUMMING, B. & LOE, H. Optimal dosage and method of delivering chlorhexidine solutions for the inhibition of dental plaque. J. Periodont. Res., 8: 57-62 , 1973.
- 6 - DAVIES et alii. Apud: SANTOS, E. C., op. cit. ref. 33.
- 7 - DAWSON, R. M. C. ; ELLIOTT, D. C. ; ELLIOTT, W. H. ; JONES, K. M. Data for biochemical research. 2. ed. , Oxford, Claredon Press, 1959. pág. 507.
- 8 - DIXON, T. F. & MEYER, A. Respiration of the bovine brain. Biochem. J., 30: 1577, 1936.
- 9 - FISHER, A. K. Respiratory variations within the normal dental pulp. J. dent. Res., 46(2): 424-8, Mar./Apr. 1969.
- 10 - ----- . Relation of body mass to respiration in rodent incisor pulp. J. dent. Res., 52(1): 127-30 , Jan./Feb., 1973.
- 11 - ----- & SCHWAB, C. The endogenous respiratory quotient of bovine dental pulp. J. dent. Res., 40(2): 346-51, 1961.
- 12 - FLIEDER, D. E. & FISHER, A. K. The rate of endogenous oxygen consumption in bovine dental pulp. J. dent. Res., 34: 921-6, 1955.

- 13 - FLOTRA, L. Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. J. Periodont. Res., 8(12): 41-4, 1973.
- 14 - FULKES, D. M. Some toxicological observations on chlorhexidine. J. Periodont. Res., 8(12): 55-7, 1973.
- 15 - GANGAROSA, L. P. & ROSETT, T. Studies in the biochemistry of oral tissue: II - Respiration of various preparations of bovine attached gingiva. J. dent. Res. 56(1): 163, 1971.
- 16 - GJERMO, P. Chlorhexidine in dental practice. J. clin. Periodont., 1: 143-54. 1974.
- 17 - GLICKMAN, I. ; TURESKY, S. ; HILL; R. Determination of oxygen consumption in normal and inflamed human gingiva using the Warburg technic. J. dent. Res., 28(1): 83-94, 1949.
- 18 - HUGO, W. B. & LONGWORTH, A. R. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. J. Pharmac., 17: 28-32, 1965.
- 19 - KIRK, Apud: MANHOLD Jr., J. H. ; BOLDEN, T. E. ; KATZ, S., op. cit. ref. 26.
- 20 - LAINSON, P. A. & FISHER, A. K. Endogenous oxygen consumption rates of bovine attached gingiva. J. Periodont. Res., 3: 132-5, 1963.
- 21 - LOE, H. Does chlorhexidine have a place in the prophylaxis of dental diseases ? J. Periodont. Res., 8(12): 93-9, 1973.

- 22 - RINDOM-SCHIOTT, C. The effect of supression of oral microflora upon the development of dental plaque and gingivits. In: MCHUGH, W. D., ed. Dental plaque. Edinburg, Livengstone, 1970. p. 247-55.
- 23 - ----- ; GLAUVIND, L. ; KARRING, T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. J. Periodont. Res., 11: 135-44 , 1976.
- 24 - MACKENZIE, I. C. ; NUKI, K. ; LOE, H. ; RINDOM-SCHIOTT, C. Two years use of chlorhexidine in man. V. Effects on stratum corneum of oral mucosa. J. Periodont. Res., 11: 165-71, 1976.
- 25 - MANHOLD, Jr., J. H. & VOLPE, A. R. Effect of inflammation in the absense of proliferation on the oxygen consumption of gingival tissue. J. dent. Res., 42(1): 103-9, Jan./Feb. 1963.
- 26 - BOLDEN, T. E. ; KATZ, S. Microrespirometer tecnic for study of human gingival tissue. Preliminary report. J. dent. Res., 39(4): 746-7, July/Aug. 1960 (Abstract).
- 27 - MORGAN, R. E. & WINGO, W. J. The oxygen consumption of gingival cravicular epithelium. Oral Surgery, 22: 257-60, Aug. 1966.
- 28 - PAUL, J. Cell and tissue culture. 2. ed. Edinburgh , Livingston, 1961, p. 312.

- 29 - RINDOM-SCHIOTT, C. ; LOE, H. ; BRINER, W. W. Two years oral use of chlorhexidine in man. IV. Effect on various medical parameters. J. Periodont. Res., 11: 158-64, 1976.
- 30 - ----- ; BRINER, W. W. ; KIRKLAND, J. J. ; LOE, H. Two years oral use of chlorhexidine in man. III. Changes in sensitivity of the salivary flora. J. Periodont. Res., 11: 153-7, 1976.
- 31 - ROLLA, G. ; LOE, H. ; RINDOM-SCHIOTT, C. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. Archs oral Biol., 16: 1109-16, 1971.
- 32 - SAHADE, W. Atividade respiratória de tecido nervoso em suspensão em soro sanguíneo de "Sus Scrofa Domesticus Gray". Investigação sobre fator controlador. Piracicaba, 1970. [Tese (Doutoramento) F.O.P.].
- 33 - SANTOS, E. C. Clorexidine. Algumas considerações. Odontólogo Mod., 7(4): 7-8, abr. 1980.
- 34 - UMBRIET, W. W. ; BURRIS, R. H. ; STAUFFER, J. F. Manometric techniques and tissue metabolism. 2^a ed. Minneapolis, Burgen Publ., 1951. p. 1-150.
- 35 - VOLPE, A. R. & MANHOLD, Jr., J. H. Microrespirometer technique for study of human gingival tissue. J. dent. Res., 41(2): 420-6, Mar./Apr. 1962.
- 36 - ZAJCEK, O. ? KINDLOVÁ, M. Oxygen consumption in different degrees of gingivitis. J. Periodont. Res., 7: 242-6, 1972.