



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANA FLÁVIA LUCIANO SERAFIM

**EFEITO DA DOENÇA PERIODONTAL E DO TRATAMENTO
AGUDO COM LEDTERAPIA SOBRE A MODULAÇÃO
PROMOVIDA PELO ENDOTÉLIO EM AORTA DE RATOS**

Londrina
2015

ANA FLÁVIA LUCIANO SERAFIM

**EFEITO DA DOENÇA PERIODONTAL E DO TRATAMENTO
AGUDO COM LEDTERAPIA SOBRE A MODULAÇÃO
PROMOVIDA PELO ENDOTÉLIO EM AORTA DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Odontologia da
Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Prof^a. Dra. Graziela Scialanti
Ceravolo

Londrina

2015

ANA FLÁVIA LUCIANO SERAFIM

**EFEITO DA DOENÇA PERIODONTAL E DO TRATAMENTO
AGUDO COM LEDTERAPIA SOBRE A MODULAÇÃO
PROMOVIDA PELO ENDOTÉLIO EM AORTA DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Odontologia da
Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Profª Orientadora Dra. **Graziela Sciantti
Ceravolo**
Universidade Estadual de Londrina

Profª. Componente as Banca **Solange de
Paula Ramos**
Universidade Estadual de Londrina

Profª. Componente as Banca **Gislaine
Garcia Pelosi Gomes**
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, ____ de _____ de ____.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Graziela por todo conhecimento transmitido através de sua orientação e conselhos durante todos os trabalhos desenvolvidos no Laboratório de Farmacologia Vascular.

À Prof^a. Solange de Paula Ramos e suas orientadas pela colaboração na obtenção do modelo experimental e empréstimo do aparelho de LED.

Agradeço a Deus e a minha família, pois sem eles eu não teria chego nem ao começo desta jornada.

Aos meus amigos que fizeram esses cinco anos bem melhores.

Finalmente, aos amigos de laboratório, Bruno, Carolina, Camila, Daniela, Guilherme, Juliana, Kawane, Rafaela e Thais. Sem sua ajuda este trabalho não seria realizado com sucesso.

SERAFIM, Ana Flávia Luciano. **Efeito da doença periodontal e do tratamento agudo com led-terapia sobre a modulação promovida pelo endotélio em aorta de ratos.** 2015. 23 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso de Odontologia - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

A doença periodontal é uma doença inflamatória multifatorial resultante de interações complexas entre microorganismos patogênicos e respostas de defesa do hospedeiro. Alguns estudos descrevem que a doença periodontal pode contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares uma vez que a doença periodontal, por ser inflamatória, aumenta as proteínas C reativas que pode gerar disfunção endotelial. A disfunção endotelial é um elemento importante e comum nas doenças cardiovasculares. As células do endotélio vascular participam do controle do tônus do músculo liso vascular pela produção de fatores relaxantes e contráteis. Na disfunção endotelial pode haver desequilíbrio na produção e/ou ação desses fatores endoteliais, aumentando a expressividade da atividade dos agentes contráteis derivados do endotélio. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da doença periodontal e de seu tratamento com LED-terapia a 940nm sobre as respostas contráteis e relaxantes da aorta de ratos Wistar. Para indução da doença periodontal foram realizadas amarras subgengivais com fio ortodôntico (0,30mm) em ratos Wistar divididos em 4 grupos: Sham: animais que tiveram as amarras retiradas logo após serem realizadas; Doença Periodontal(DP): animais que permaneceram com as amarras por 14 dias; LED: animais que tiveram as amarras retiradas no 14º dia, receberam LED-terapia (940nm, 4J) e foram utilizados dois dias depois; e Sem LED: animais que tiveram as amarras retiradas no 14º e foram utilizados dois dias depois. Para estudo da reatividade vascular, a aorta torácica foi removida e dividida em quatro anéis: três anéis E+: onde foi mantido o endotélio e um anel E-: onde foi retirado o endotélio. Os anéis foram testados para o vasoconstritor fenilefrina e para os vasodilatadores acetilcolina e nitroprussiato de sódio. Os animais dos grupos DP, LED e sem LED apresentaram aumento na resposta contrátil para fenilefrina em anéis E+, quando comparados com a resposta do grupo SHAM. A remoção do endotélio igualou as respostas entre os grupos para fenilefrina. A aorta dos animais dos grupos DP e sem LED relaxaram menos para a

acetilcolina quando comparadas com as do grupo SHAM. Não houve diferença entre os grupos para o nitroprussiato. Concluímos que a doença periodontal causa disfunção endotelial em ratos que não é corrigida com a LED-terapia ou remoção das amarras por dois dias.

Palavras-Chave: Doença Periodontal, Fototerapia, Disfunção Endotelial.

SERAFIM, Ana Flávia Luciano. **Effect of periodontal disease and the acute treatment with led-therapy on aortic endothelial function in rat.** 2015. 23 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso de Odontologia - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

The periodontal disease is a multifactorial inflammatory disease resultant of complex interactions between pathogenic microorganisms and the host defense response. It has been described that periodontal disease may contribute to the development of cardiovascular disease once that the periodontal disease improves the C reactive protein that can generate endothelium dysfunction. The endothelium dysfunction is an important communal factor in cardiovascular diseases. The vascular endothelium cells take part of the control of vascular smooth muscle tonus by producing relaxant and contract factors. It may have unbalance on production and/or action of these endothelial factors on endothelium dysfunction, improving the action of the contract agent endothelium derivatives. Thus, the present study was designed to evaluate the effects of periodontal disease and the treatment with LED-therapy 940nm on the aortic contract and relaxant response in Wistar rats. For the induction of periodontal disease subgingival ligature were made with orthodontic thread (0,30mm) and the animals were divided in 4 groups: SHAM: animals that had the ligature removed right after it was done; Periodontal Disease(PD): animals that the ligature remained for 14 days; LED: animals that had the ligature removed on the 14^o day and received LED-therapy (940nm, 4J) on that day and were used two days after; and without LED: animals that had the ligature removed on the 14^o day and were used two days after. To the study of vascular reactivity, the thoracic aorta was removed and divided in four rings: three rings E+: where the endothelium was maintained and one ring E-: where the endothelium was removed. The rings were tested for the vasoconstrictor phenylephrine and the vasodilatadors acetylcholine and sodium nitroprusside. The vasoconstriction was increased in aortic rongs E+ from PD, LED and without LED when compared with SHAM and endothelial removal equaled the vasoconstriction among the groups. The acetylcholine-induced vasodilation was reduced in DP and without LED groups when compared with SHAM groups. The vasodilation induced by sodium nitroprusside was similar among the groups. It is possible to conclude that periodontal disease can cause endothelium

dysfunction in rats and this dysfunction was not corrected by LED-therapy or by ligature removal for two days.

Key words: Periodontal Disease, Phototherapy, Endothelium Dysfunction.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACH	Acetilcolina
DCV	Doenças Cardiovasculares
DP	Doença Periodontal
FE	Fenilefrina
LED	<i>Light-emittign diode</i>
NPS	Nitroprussiato de Sódio
NO	Óxido Nítrico

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Resposta vasoconstritora para fenilefrina em E+	18
Figura 2 – Resposta vasoconstritora para fenilefrina em anéis E-	19
Figura 3 – Resposta vasodilatadora para acetilcolina em anéis E+	20
Figura 4 – Resposta vasodilatadora para nitroprussiato de sódio em anéis E+	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela com valores de resposta máxima (Rmax) para fenilefrina, acetilcolina e nitroprussiato de sódio.....	16
--	----

Sumário

1.INTRODUÇÃO	13
2.OBJETIVOS	16
3.MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1.ANIMAIS	17
3.2.LED-TERAPIA	17
3.3.GRUPOS EXPERIMENTAIS	18
3.4.REATIVIDADE DA AORTA ISOLADA	18
3.5.APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
4.RESULTADOS e DISCUSSÃO	20
5.CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1.INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença inflamatória multifatorial resultante de interações complexas de microorganismos patogênicos e respostas de defesa do hospedeiro, podendo ser modificada por fatores externos, como, por exemplo, o tabagismo. Esta doença se caracteriza pela destruição do tecido de suporte do dente, tais como epitélio juncional, ligamento periodontal, osso alveolar e cemento, formando bolsa periodontais que resultam em mobilidade dental e eventual perda do elemento. Dados de diferentes países mostram que a prevalência de periodontite chega a 50% das populações (SAFFI et al., 2015).

As doenças periodontais e as doenças cardiovasculares compartilham muitos fatores de risco, como idade, nível educacional, gênero, condições financeiras, hábito de fumar, uso de bebidas alcoólicas, hipertensão, estresse, depressão e diabetes (VIEIRA, 2014). Além disso, as bactérias presentes na periodontite podem ser também encontradas na endocardite bacteriana e em placas de ateroma. Além disso, que os marcadores inflamatórios sistêmicos são comuns em indivíduos com aterosclerose e doença periodontal (Moraes et al. 2003).

As doenças cardiovasculares são consideradas uma epidemia mundial. Em nosso país, as DCV têm sido a principal causa de morte. Em 2007, ocorreram 308.466 óbitos por doenças do aparelho circulatório (Malta et al., 2009). As DCV são ainda responsáveis por alta frequência de internações, ocasionando custos médicos e socioeconômicos elevados (V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão; Documento do Banco Mundial).

Um ponto comum entre a maioria das doenças cardiovasculares é a disfunção endotelial. O endotélio vascular é uma camada celular que reveste internamente o vaso e atua como barreira entre a parede do vaso e o fluxo sanguíneo. Além disso, tem importante papel no sistema cardiovascular, incluindo a regulação do tônus vascular, reparo de lesões vasculares, controle da homeostase e síntese e secreção de moléculas como óxido nítrico (NO), prostaglandinas (PG), endotelina, tromboxana (TXA₂), entre outros (BAHIA et al., 2004).

As células endoteliais vasculares têm importante papel na manutenção

da homeostase cardiovascular. Além de proporcionar uma barreira física entre o lúmen e a parede do vaso, o endotélio regula ativamente o tônus vascular e a reatividade vascular em condições fisiológicas, respondendo a forças mecânicas e a mediadores químicos, além de liberar uma variedade de fatores contráteis e relaxantes (FURCHGOTT e VANHOUTTE, 1989). Frente a estímulos específicos, as células endoteliais podem liberar fatores relaxantes derivados do endotélio (EDRFs), como também fatores contráteis derivados do endotélio (EDCFs) (FURCHGOTT e VANHOUTTE, 1989). Os EDRFs incluem o óxido nítrico (NO), a prostaciclina (PGI₂) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). Os EDCFs compreendem a angiotensina II (Ang II), a endotelina-1 (ET-1), as espécies reativas de oxigênio e prostanóides vasoconstritores (FÉLETOU et al., 2010). Em condições fisiológicas, o tônus vascular é garantido pelo equilíbrio exercido por estes fatores, especialmente os produtos das ciclooxigenase (COX), em conjunto com o NO. O desequilíbrio na produção e/ou liberação dos fatores envolvidos no relaxamento e na contração vascular, com aumento de EDCFs e/ou diminuição de EDRFs, caracteriza a disfunção endotelial (Vanhoutte et al., 2010).

A fototerapia consiste em uma terapia a base de luz com laser (*light amplification by stimulated emission of radiation*) ou diodos emissores de luz (*light-emitting diode* – LED). As ações do *laser* e do LED são similares nos tecidos, como exemplo a fototerapia pode reduzir marcadores da inflamação. Entretanto, o LED apresenta custo menor em relação ao *laser*, além disso, oferece mais segurança ao operador, além de irradiar áreas mais amplas que o laser, e de não gerar calor (KARU, 1987).

Recentemente, o LED vem sendo descritos na literatura como uma forma de terapia complementar ao tratamento básico para as doenças periodontais (CRISPINO et al., 2015). Atualmente, o tratamento convencional para a periodontite consiste na raspagem, alisamento e descontaminação radicular supra e/ou subgingival, a fim de eliminar o cálculo e as bactérias associadas ao mesmo. Grande parte do sucesso do tratamento periodontal depende da motivação e colaboração do paciente, uma vez que o tratamento deve ser continuado com limpeza da região com escova dentária e fio dental em casa. Este é um fator que dificulta o tratamento, pois, muitas vezes, ao verem o sangramento gengival proveniente do tecido inflamado, o paciente não

quer dar continuidade à limpeza da região e há recolonização da região. A associação da LED-terapia com o tratamento convencional da periodontite seria benéfica no sentido de que sua ação anti-inflamatória poderia reduzir o edema intersticial e intercelular ao aumentar a circulação sanguínea no tecido danificado, resultando em menor dor no local. Além disso, há queda nos níveis de histamina e serotonina presentes na doença periodontal (CARDOSO BEZERRA et al., 2015).

Por atuar nos mediadores inflamatórios, que tem sua expressão alterada, a aplicação da fototerapia pode contribuir também para a correção da disfunção endotelial.

2.OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da periodontite e da LED-terapia sobre a resposta contrátil e relaxante de anéis de aorta com e sem endotélio isolada de ratos Wistar.

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar, com peso de 300g (± 25 g), provenientes da colônia do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Estes animais foram transferidos para o Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas onde foram mantidos em condições padronizadas, em gaiolas coletivas de polietileno (04 ratos/caixa), temperatura de $22\pm 1^\circ\text{C}$, ciclo claro escuro 12/12 horas, com água e alimento a vontade. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina (CEUA nº 8.182.201.589).

Os ratos de todos os grupos experimentais foram anestesiados com cloridato de cetamina (100 mg/Kg) e cloridato de xilazina (20 mg/Kg) via intraperitoneal, e foram realizadas amarras subgengivais nos primeiros molares superiores, de ambas arcadas, com fio ortodôntico número 0,30. O fio foi inserido na região subgengival com o auxílio de uma espátula Holleback, para a indução da resposta inflamatória associada ao acúmulo de placa no peridonto de inserção dos molares superiores. Nos ratos Sham os fios de amarras foram retirados imediatamente após sua colocação. Nos ratos com doença periodontal, o fio permaneceu na posição por 14 dias. Em outra série de experimentos, ratos com doença periodontal foram novamente anestesiados, as amarras foram removidas e os animais divididos em dois grupos: um grupo passou pelos procedimentos de raspagem periodontal e outro aplicação de LED-terapia a 940NM durante 4 minutos. Os ratos destes dois grupos foram utilizados dois dias após a remoção das amarras.

3.2.LED-TERAPIA

A LED-terapia foi administrada em uma única sessão utilizando equipamento fabricado no laboratório de Óptica e Optoeletrônica do Departamento de Física da UEL.

O equipamento possui 6 LEDs de 940nm com abertura de banda de 30nm, potência de 1.6 W e densidade de potência de 1.6 W/cm^2 . O equipamento foi posicionado a 3 cm da superfície oclusal dos molares

superiores, irradiando uma área de 1cm^2 , e liberando uma dose total de 4J, com densidade de energia de $4\text{J}/\text{cm}^2$, e tempo total de aplicação de 4 minutos.

3.3.GRUPOS EXPERIMENTAIS

SHAM: ratos que tiveram as amarras retiradas logo após serem realizadas.

Doença Periodontal (DP): ratos que permaneceram com as amarras por 14 dias.

LED: ratos que no 14^o dia tiveram as amarras retiradas, receberam led-terapia e foram utilizados para os experimentos dois dias depois.

Sem LED: ratos que no 14^o dia tiveram as amarras retiradas e foram utilizados para os experimentos dois dias depois.

3.4.REATIVIDADE DA AORTA ISOLADA

Ratos dos quatro grupos experimentais foram anestesiados com tiopental sódico ($40\text{mg}/\text{kg}$, ip) e passaram por toracotomia para remoção da aorta. Este vaso sanguíneo foi dissecado e dividido em quatro anéis de 4 mm cada. Em três anéis o endotélio foi mantido (E+) e em outro, o endotélio foi retirado (E-). Os anéis de aorta foram montados em banhos para estudo de órgãos isolados, com auxílio de ganchos de aço inoxidável. Um dos ganchos foi fixo à base da cuba para órgãos isolados e o outro conectado a um transdutor isométrico (FT03, Grass) que estava acoplado a um amplificador de sinal (AECAD 04, AVS Projetos) e este a um computador.

A aorta permaneceu sob tensão de 1,5g, em solução de Krebs-Henseleit modificada (concentrações em mM: 130 NaCl; 14,9 NaHCO_3 ; 4,7 KCl; 1,18 KH_3PO_4 ; 1,17 MgSO_4 ; 7 H_2O ; 5,5 glicose; 1,56 $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ e 0,026 EDTA), gaseificada, com mistura de 95% de O_2 e 5% de CO_2 , mantendo uma temperatura de $37(\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C})$, durante todo o protocolo experimental.

Para avaliar a viabilidade do músculo liso vascular, os anéis de aorta foram estimulados com KCl (90mM), após este procedimento os anéis foram lavados por um período de 40 minutos ou até que retornassem a tensão basal, aqueles anéis de aorta que não responderam ao KCl foram descartados.

Para comprovar a presença ou remoção do endotélio, os anéis de aorta foram pré-contraídos com Fenil e, após estabilização da resposta, foi aplicada ACh (0,1 μ M), agente vasodilatador dependente do endotélio. O endotélio foi considerado presente quando o anel de aorta relaxou entre 50-80% e ausente quando a vasodilatação promovida pela ACh foi inferior a 5% da pré-contração.

Antes da construção das curvas, os anéis de aorta foram submetidos à contração com KCl (90mM) para verificar a integridade do vaso. Foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas (CCE) para o vasoconstritor, fenilefrina (FE: 1nM-30 μ M) e vasodilatadores acetilcolina (ACh: 1nM-30 μ M) e nitroprussiato de sódio (NPS: 0,1nM-3 μ M) em anéis pré-contraídos com FE (0,3 μ M).

3.5. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

As respostas ao agente vasoconstritor foram expressas em gramas (g) de tensão e as respostas aos agentes vasodilatadores em porcentagem de relaxamento em relação à pré-contração. As comparações entre os diferentes grupos experimentais foram realizadas pela determinação da resposta máxima (Rmax) para os diferentes agonistas calculadas utilizando o programa de computador *GraphPad Prism 6* (GraphPad Software, Califórnia, USA).

Os resultados foram submetidos ao teste de Bartlett para determinação da normalidade. Para os resultados que estavam dentro da distribuição normal as comparações estatísticas foram feitas como teste ANOVA de uma ou duas vias, seguidos do teste de Bonferroni. Para os demais resultados foi usado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. As diferenças foram consideradas quando $p < 0.05$.

4.RESULTADOS e DISCUSSÃO

A FE, ACh e NPS causaram resposta concentração-dependente em anéis de aorta dos grupos SHAM, DP, LED e sem LED (Figuras 1,2, 3 e 4).

Nos anéis de aorta E+ de ratos DP a Rmax vasoconstritora para FE se mostrou aumentada quando comparada com a Rmax nos anéis E+ dos ratos SHAM (Figura 1). Ainda na presença do endotélio, nos anéis de aorta de ratos DP, a Rmax para ACh foi reduzida quando comparada com a do grupo SHAM (Figura 3), e a Rmax para o NPS e para FE na ausência do endotélio foi semelhante entre estes grupos (Figuras 2 e 4, Tabela 1). Estes resultados sugerem que a DP induziu disfunção endotelial, aqui demonstrada pela reduzida resposta vasodilatadora dependente do endotélio e a incapacidade dessas células em modular a resposta vasoconstritora. De fato, Brito et al., 2013 demonstrou que a indução de DP pode aumentar marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo na aorta de ratos o que sugere que a DP poderia causar disfunção endotelial. Além disso, os resultados para os vasoconstritores ACh e NPS foram semelhantes ao mesmo trabalho referido. Entretanto, ao contrário do aqui demonstrado, estes autores não observaram alteração da reatividade da aorta para fenilefrina.

O NO é produzido por três isoformas da enzima NO sintase (NOS), a endotelial (eNOS), a neuronal (nNOS) e a induzível (iNOS). Vem sendo descrito que a disfunção endotelial induzida pela DP há aumento expressão da enzima NADPH, e conseqüente maior geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) e menor expressão da eNOS, o que seria responsável pela menor biodisponibilidade do NO (Saffi *et al.* 2015). Ainda, sugere-se que a resposta inflamatória na DP pode envolver a produção de NO pela iNOS (Herrera et al. 2011;(BAHIA et al., 2004). Com nossos resultados ainda não é possível inferir quais mecanismos estão envolvidos na DP induzida por ligadura dentária em ratos Wistar.

A LED-terapia tem se mostrado promissora como adjuvante ao tratamento convencional. De fato, Yilmaz et al., 2013 descreveu redução das cepas anaeróbias em pacientes submetidos ao tratamento convencional combinado com aplicação de led-terapia. Apesar destas descrições observamos que a Rmax para FE nos anéis E+ de ratos sem LED e LED foi

aumentada quando comparada com a Rmax de ratos SHAM. Quanto a Rmax para ACh esta também foi reduzida nos grupos sem LED e LED quando comparada com a do grupo SHAM. Estes resultados sugerem que tanto o tratamento convencional (grupo sem LED), quanto o tratamento agudo com LED não foram capazes de corrigir a disfunção endotelial induzida pela DP.

Ao contrário de nossos resultados na aorta, a LED-terapia de baixa intensidade (940nm), por 4 minutos pode reduzir a inflamação local e a auxiliar a neoformação óssea em ratos submetidos à osteotomia de 3 mm com broca refrigerada e tratados com LED-terapia (PIRES, 2013). Em humanos, a LED-terapia de 940nm associada à terapia básica pode melhorar a profundidade de sondagem, a inflamação gengival e o índice de placa na DP (Crispino et al., 2015). Por outro lado, Lobo e Pol (2015) não encontraram diferença na utilização do LED 940NM na terapêutica de cirurgias a retalho. As diferenças encontradas entre os estudos podem ser explicadas uma vez que, nos experimentos referidos não foram avaliados os efeitos sistêmicos da utilização do LED. Para mais, no estudo de Lobo e Pol, a aplicação de fototerapia foi efetuada no ato cirúrgico, caracterizando diferença na terapêutica utilizada, assim como os objetos de estudo.

Tabela 1: Valores de resposta máxima (Rmax, g) e para fenilefrina, acetilcolina e nitroprussiato de sódio em anéis de aorta, com endotélio (E+) e sem endotélio (E-) de ratos SHAM, doença periodontal, LED e sem LED.

Grupos	SHAM	Doença Periodontal	LED	Sem LED
Rmax (g)				
FE E+	2,01±0,12 (8)	2,73±0,130* (11)	2,88±0,19* (11)	2,76±0,17* (10)
FE E-	4,61±0,35 (6)	4,58±0,23 (8)	4,44±0,39 (9)	4,42±0,28 (8)
Rmax (%)				
Ach	98,00±1,39 (6)	83,11±2,55* (7)	74,24±8,26* (5)	84,64±2,12* (6)
NPS	99,38±1,28 (9)	95,18±1,83 (7)	94,53±1,82 (6)	96,10±1,72 (6)

Fonte: O próprio autor. Entre parênteses o número de animais por grupo. *p<0,05 vs SHAM resposta máxima.

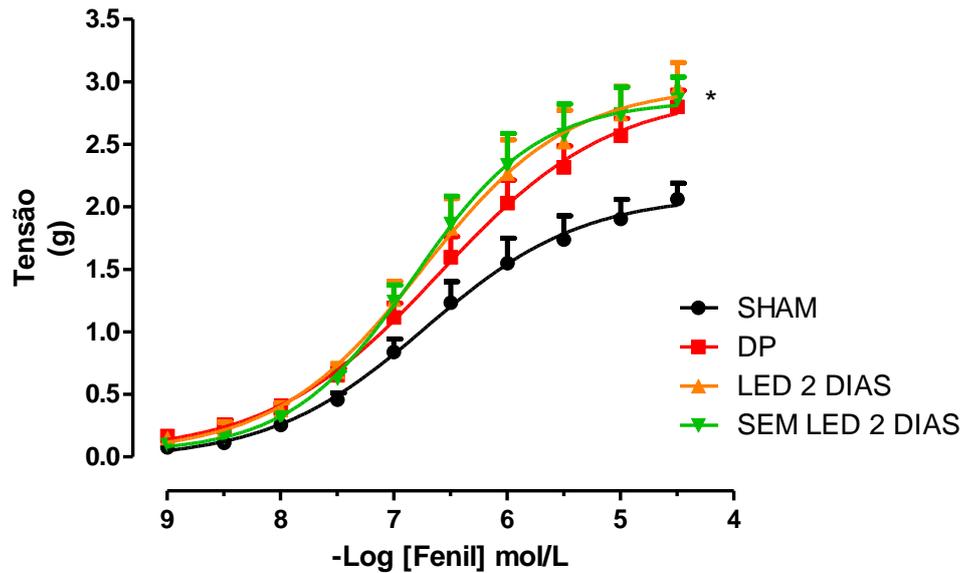


Figura 1: Curvas concentração-efeito cumulativas para fenilefrina (Fenil) obtidas em anéis de aorta com endotélio (E +) isolados de ratos SHAM (n=8), doença periodontal (n=11), LED (n=11) e sem LED (n=10). Os valores foram expressos como média±epm da contração em gramas. *p<0,05 vs resposta máxima do SHAM. ANOVA de uma via, seguido do teste de Bonferroni.

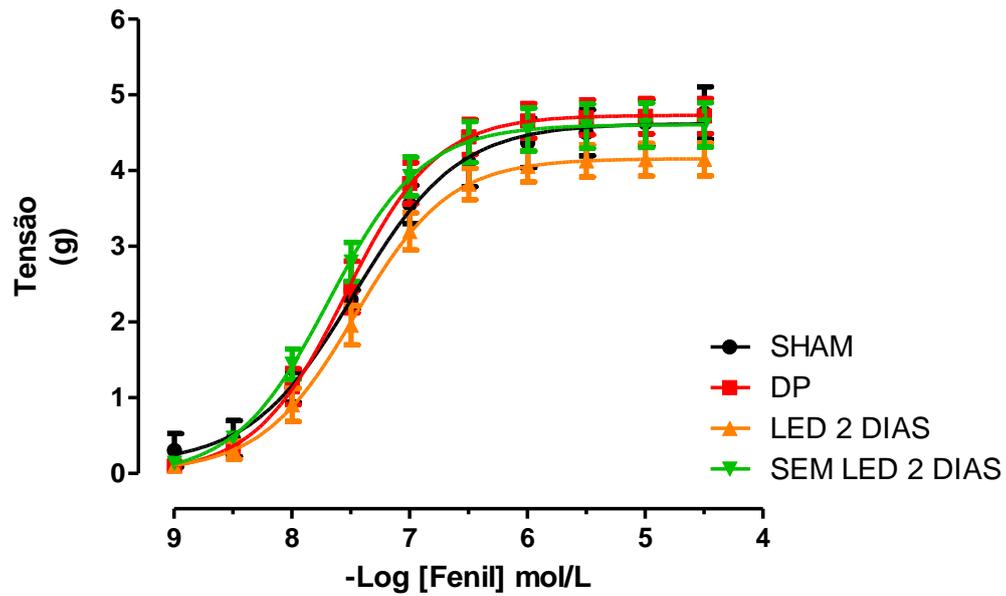


Figura 2: Curvas concentração-efeito cumulativas para fenilefrina (Fenil) obtidas em anéis de aorta sem endotélio (E -) isolados de ratos SHAM (n=6), doença periodontal (n=8), LED (n=9) e sem LED (n=8). Os valores foram expressos como média±epm da contração em gramas. ANOVA de uma via, seguido do teste de Bonferroni.

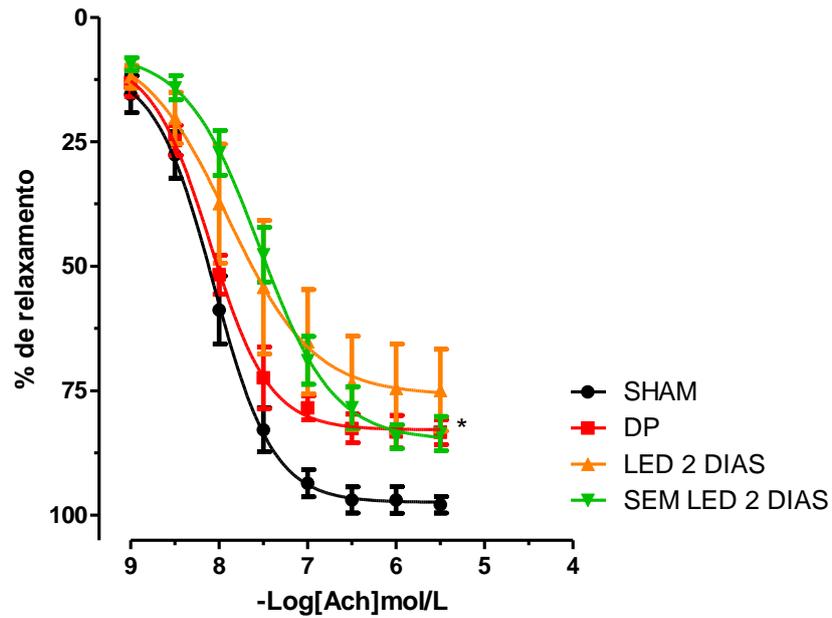


Figura 3: Curvas concentração-efeito cumulativas para acetilcolina (ACh) obtidas em anéis de aorta com endotélio (E +) isolados de ratos SHAM (n=6), doença periodontal (n=7), LED (n=5) e sem LED (n=6). Os valores foram expressos como média±epm da porcentagem de relaxamento. *p<0,05 vs resposta máxima do controle. ANOVA de uma via, seguido do teste de Bonferroni.

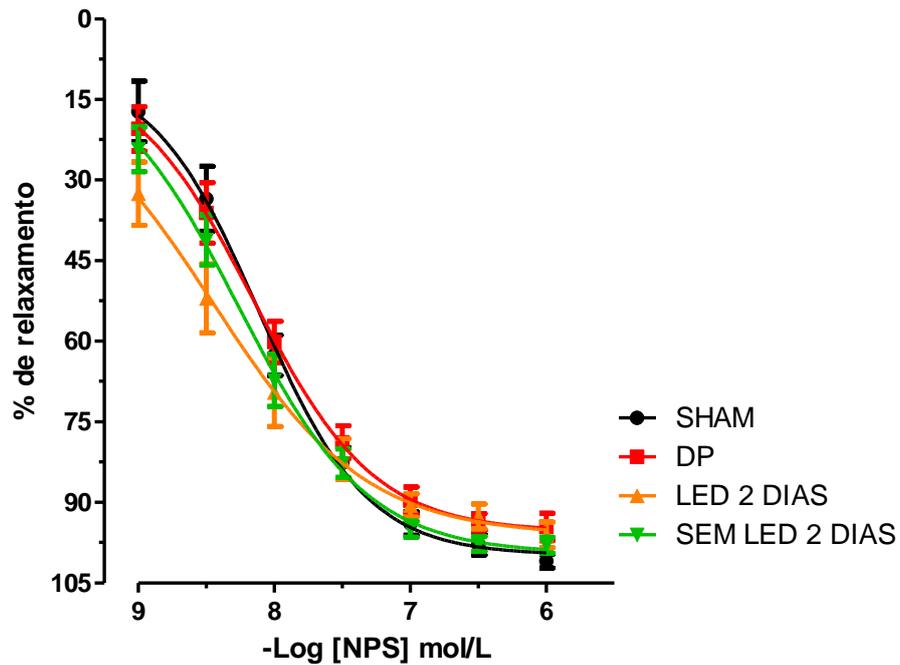


Figura 4: Curvas concentração-efeito cumulativas para nitroprussiato de sódio obtidas em anéis de aorta com endotélio (E+) isolados de ratos SHAM (n=9), doença periodontal (n=7), LED (n=6) e sem LED (n=6). Os valores foram expressos como média \pm epm da porcentagem de relaxamento. ANOVA de uma via, seguido do teste de Bonferroni.

5.CONCLUSÃO

Com nossos resultados concluímos que a doença periodontal, em duas semanas, pode induzir em aorta de ratos disfunção endotelial. Além disso, que tanto o tratamento convencional quanto a aplicação de led-terapia, associada ao tratamento convencional, não foram capazes de corrigir a disfunção endotelial. A não efetividade dos tratamentos pode estar relacionada ao tempo, uma vez que estes foram aplicados uma única vez no 14º dia de periodontite e a função endotelial testada dois dias após.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAHIA, L. et al. Endotélio e aterosclerose. **Revista da SOCERJ**, v. 17, p. 26–32, 2004.

BEHDIN, S. et al. Effectiveness of Laser Application for Periodontal Surgical Therapy: Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Periodontology**, p. 1–23, 2015.

BRUNETTI, M.C; FERNANDES, M.I; MORAES, R.G.B. **Fundamentos da Periodontia: Teoria e Prática**. 1^a ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007.

CARDOSO BEZERRA, S. J. et al. Laser Phototherapy (660 nm) Can Be Beneficial for Reducing Gingival Inflammation in Prosthodontics. **Case Reports in Dentistry**, v. 2015, p. 1–6, 2015.

CHANG, P. C. et al. Irradiation by light-emitting diode light as an adjunct to facilitate healing of experimental periodontitis in vivo. **J Periodontal Res**, v. 48, n. 2, p. 135–143, 2013.

CHENG, Y. et al. Efficacy of adjunctive laser in non-surgical periodontal treatment: a systematic review and meta-analysis. **Lasers in Medical Science**, 2015.

CRISPINO, A. et al. Effectiveness of a diode laser in addition to non-surgical periodontal therapy : study of intervention Corresponding author : n. 1, p. 15–20, 2015.

D'ANDREA FONSECA, P. et al. Effects of light emitting diode (LED) therapy at 940 nm on inflammatory root resorption in rats. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 1, p. 49–55, 2013.

DEDERICH, D. N. Little evidence for the use of diode lasers as an adjunct to non-surgical periodontal therapy. **Evidence-Based Dentistry**, v. 16, n. 1, p. 16–16, 2015.

DESVARIEUX, M. et al. Periodontal microbiota and carotid intima-media thickness. **Circulation**, v. 111, n. 5, p. 576–582, 2005.

Documento do Banco Mundial. Enfrentando o desafio das doenças não transmissíveis no Brasil. Relatório No 32576-BR. 15 de novembro de 2005.

DUKIĆ, W. et al. Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized clinical study. **Journal of periodontology**, v. 84, n. 8, p. 1111–7, 2013.

FAULX, M. D.; WRIGHT, A. T.; HOIT, B. D. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. **American Heart Journal**, v. 145, n. 6, p. 943–951, 2003.

FÉLÉTOU, M.; HUANG, Y.; VANHOUTTE, P.M. Vasoconstrictor prostanoids. **Pflugers Arch.** 2010 May;459(6):941-50.

FERNANDES, K. S. Avaliação da Eficácia Clínica do Uso do Laser de Baixa Potência, Vitamina E (Alfa-Tocoferol) e Protocolo Farmacológico no Manejo da Mucosite Oral Radioinduzida. p. 1–94, 2012.

FILHO, K.R; BORGES, F.A. Considerações cardiológicas sobre o paciente com doença periodontal In: BRUNETTI, M.C. **Periodontia Médica: uma abordagem integrada.** São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2004. p.197-216.

FURCHGOTT, R.F.; VANHOUTTE, P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. **FASEB J.** 1989 Jul;3(9):2007-18. Review.

GUPTA, P. et al. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. **Archives of Microbiology**, 2015.

HAVEL, M. et al. Diode laser-induced tissue effects: In vitro tissue model study and in vivo evaluation of wound healing following non-contact application. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 46, n. 6, p. 449–455, 2014.

KARU, T. I.; TIFLOVA, O. A. Effect of low-intensity monochromatic visible light on the growth of Escherichia coli cultures. **Mikrobiologiia**, v. 56, n. 4, p. 626-30, Jul-Aug 1987. ISSN 0026-3656

KIESELBACH, T. et al. Proteomics of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Outer Membrane Vesicles. **Plos One**, v. 10, n. 9, p. e0138591, 2015.

KUBOYAMA, N. et al. Anti-inflammatory activities of light emitting diode irradiation on collagen-induced arthritis in mice (a secondary publication). **Laser therapy**, v. 23, n. 3, p. 191–9, 2014.

LOBO, T.; POL, D. Evaluation of the use of a 940 nm diode laser as an adjunct in flap surgery for treatment of chronic periodontitis. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 19, n. 1, p. 43, 2015.

MACHADO, W. M. et al. The effect of simvastatin on systemic inflammation and endothelial dysfunction induced by periodontitis. **Journal of Periodontal Research**, n. 7, p. 634–641, 2013.

MALTA, D.C.; MOURA, L.; SOUZA, F.M.; ROCHA, F.M.; FERNANDES, F.M. Doenças crônicas não-transmissíveis: mortalidade e fatores de risco no Brasil, 1990 a 2006 in Saúde Brasil 2008.

Ministério da Saúde, Brasília. 2009. Pág 337–362.SGOLASTRA, F. et al.

Effectiveness of diode laser as adjunctive therapy to scaling root planning in the treatment of chronic periodontitis: A meta-analysis. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 5, p. 1393–1402, 2013.

MORAES, R.G.B; DIAS, L.Z.S; FURTADO, M.A.H. A doença periodontal e o seu relacionamento com as doenças cardiovasculares. In: BRUNETTI, M.C. **Periodontia Médica: uma abordagem integrada**. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2004. p.217-249

SAFFI, M. A. L. et al. Relationship between vascular endothelium and periodontal disease in atherosclerotic lesions: Review article. **World Journal of Cardiology**, v. 7, n. 1, p. 26, 2015.

SIEDEK, V. et al. Influence of laser light on bioimplants used in otorhinolaryngology. **Lasers in Medical Science**, p. 965–972, 2013.

SMILEY, C. J. et al. Evidence-based clinical practice guideline on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts. **The Journal of the American Dental Association**, v. 146, n. 7, p. 525–535, 2015.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. **V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão**. Arq Bras Cardiol 2006 Fev: 1–48.

THEODORO, L.; CAIADO, R. Effectiveness of the diode laser in the treatment of ligature-induced periodontitis in rats: a histopathological, histometric, and immunohistochemical study. **Lasers in medical science**, v. 1575, n. DI, p. 1–19, 2014.

ÜSTÜN, K. et al. Clinical and Biochemical Effects of 810 nm Diode Laser as an Adjunct to Periodontal Therapy: A Randomized Split-Mouth Clinical Trial. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 32, n. 2, p. 61–66, 2014.

VANHOUTTE, P.M.; SHIMOKAWA, H.; TANG, E.H.; FELETOU, M. Endothelial dysfunction and vascular disease. **Acta Physiol (Oxf)**. 2009 Jun;196(2):193-222.

VIEIRA, R. W. Cardiovascular and periodontal diseases. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 29, n. 1, p. VII–IX, 2014.

