UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

RICARDO NOGUEIRA FRACON

**AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA DO REPARO
ÓSSEO ALVEOLAR DE RATOS TRATADOS COM
ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTEROIDAIIS**

Ribeirão Preto

2009

RICARDO NOGUEIRA FRACON

**AVALIAÇÃO HISTOMÉTRICA DO REPARO
ÓSSEO ALVEOLAR DE RATOS TRATADOS COM
ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTEROIDAIIS**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Ribeirão Preto, da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Mestre em
Biologia Oral.

Orientadora: Prof(a). Dr(a). Teresa Lúcia Colussi Lamano

RIBEIRÃO PRETO
2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

RICARDO NOGUEIRA FRACON

Avaliação histométrica do reparo ósseo alveolar de ratos tratados com anti-inflamatórios não esteroidais

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Biologia Oral.

Aprovado em ____ / ____ / 2009

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição _____ Assinatura _____

DEDICATÓRIA

A **Deus**, este ser maior por me guiar pelos caminhos a serem trilhados e me ajudar a superar todos os obstáculos que surgem em nossas vida.

A meu saudoso pai Paulo e minha mãe Marita por me mostrarem que com princípios e honestidade tudo se consegue.

À minha esposa Sandra, pela compreensão, apoio e sempre me fazer acreditar no meu potencial, apesar de todas as adversidades.

A meus filhos Felipe e Gabriel que são o sentido da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A professora doutora Teresa Lúcia Colussi Lamano, minha orientadora, pela paciência, dedicação e sabedoria com que soube conduzir esta etapa da minha vida. Deixo aqui todo o meu respeito e gratidão pelos ensinamentos ao longo destes anos.

A doutora Juliana Mazzoneto Teófilo pela inestimável ajuda, sua competência e boa vontade foram marcantes.

Aos funcionários do laboratório de patologia Antônio, Edna, Gilberto e em especial a Adriana que me ajudaram a desenvolver a parte prática deste trabalho.

Morre lentamente quem não viaja, quem não lê, quem não ouve musica, quem não encontra graça em si mesmo.

Morre lentamente quem destrói o seu amor próprio, quem não se deixa ajudar.

Morre lentamente quem se transforma em escravo do hábito, repetindo todos os dias o mesmo trajeto, quem não muda de marca , não se arrisca a vestir uma nova cor , ou não conversa com quem não conhece.

Morre lentamente quem faz da televisão o seu guru.

Morre lentamente quem evita uma paixão, quem prefere o negro sobre o branco, e os pontos sobre os iss em detrimento de um redemoinho de emoções, justamente as que resgatam o brilho nos olhos, sorrisos dos bocejos, corações aos tropeços e sentimentos.

Morre lentamente quem não vira a mesa quando está infeliz com o seu trabalho, quem não arrisca o certo pelo incerto para ir atrás de um sonho , quem não se permite pelo menos uma vez na vida fugir dos conselhos sensatos.

Morre lentamente, quem passa os dias queixando-se da má sorte ou da chuva que cai incessante

Morre lentamente quem abandona um projeto antes de iniciá-lo , não pergunta sobre um assunto que desconhece ou não responde quando lhe indagam sobre algo que sabe.

Evitemos a morte em doses suaves, recordando sempre que estar vivo exige um esforço muito maior que o simples fato de respirar.

SOMENTE A PERSEVERANÇA FARÁ COM QUE CONQUISTEMOS UM ESTÁGIO ESPLENDIDO DE FELICIDADE.

Pablo Neruda

RESUMO

As prostaglandinas (PGs) são derivadas do metabolismo do ácido aracdônico pela via das enzimas cicloxigenases (COX-1 e COX-2) e participam do controle do metabolismo ósseo. Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), inibidores das COX, podem interferir negativamente com a formação óssea, atrasando o reparo de fratura de ossos longos, a fusão espinhal e a osseointegração de implantes. O presente trabalho teve por objetivo avaliar, quantitativamente, o efeito de diferentes tipos de AINEs (convencional, preferencial e seletivo para COX-2), assim como de um analgésico com efeito anti-inflamatório fraco, sobre o reparo ósseo alveolar, em ratos machos. Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais: a) controle (administração de 1 mL água/dia), b) cetorolaco de trometamina (inibidor não-seletivo COX-1/COX-2; ingestão de 4 mg/kg/dia), c) nimesulida (inibidor preferencial de COX-2; ingestão de 5 mg/kg/dia), d) paracetamol (efeito anti-inflamatório fraco; ingestão de 80 mg/kg/dia), e) etoricoxibe (inibidor seletivo de COX-2; ingestão de 10 mg/kg/dia). As dosagens foram baseadas em trabalhos experimentais da literatura e na equivalência com a terapêutica humana. A administração foi realizada por gavagem gástrica, iniciando logo após a extração do incisivo superior direito e seguindo por um período de 14 dias, após o que os ratos foram sacrificados, as hemi-maxilas contendo os alvéolos em reparação foram coletadas e processadas para inclusão em parafina, orientada de maneira a permitir cortes semi-seriados longitudinais de 6 μ m de espessura (a intervalos de 60 μ m), que foram corados pela hematoxilina e eosina. O percentual de tecido ósseo neoformado foi estimado por método de contagem diferencial de pontos, utilizando-se um microscópio óptico munido de câmera digital de vídeo para captura de imagens e um programa para histometria. Foram contados cerca de 1200 pontos ($1182,9 \pm 47,6$ pontos; média $\pm$ EPM) no terço cervical alveolar de cada animal, em cerca de 8 secções histológicas intercaladas ($8,6 \pm 0,3$ secções; média $\pm$ EPM). Após a aplicação de teste que comprovou a normalidade de todas as distribuições (teste de Kolmogorov-Smirnov, $p > 0,10$) aplicou-se a Análise de Variância (gl=4; $F = 1,52$; $x^2 = 0,13$), que comprovou que o tratamento com os diferentes tipos de AINEs não interferiu com a formação óssea reparacional, neste modelo experimental. Os presentes resultados, obtidos em animais, não devem ser diretamente extrapolados para humanos, nem conduzir a uma inferência sobre o uso de AINEs na clínica odontológica. No entanto, as numerosas evidências experimentais e clínicas de que os diferentes tipos de AINEs podem ter efeitos indesejados na clínica ortopédica, somadas ao número reduzido de estudos voltados especificamente para a área odontológica, indicam a necessidade de mais investigações nessa área, com variação dos parâmetros experimentais e das ferramentas de avaliação, antes que se descarte a possibilidade de que os AINEs possam ter efeitos indesejados em procedimentos odontológicos que necessitam de formação óssea, principalmente no caso de utilização prolongada.

Palavras-chaves: Reparo ósseo, Reparo Alveolar, Prostaglandinas, Cicloxigenases, Anti-inflamatório não esteroidal

ABSTRACT

The cyclooxygenase enzymes COX-1 and COX-2 catalyze the conversion of arachidonic acid to prostaglandins (PGs), eicosanoids important for control of bone metabolism. The non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which are COX inhibitors, may negatively interfere with bone formation and delay long bone fracture healing, spinal fusion and implant osseointegration. The aim of the present study was to investigate quantitatively whether different types of NSAIDs (conventional, preferential and COX-2-selective), as well as an analgesic drug with a weak anti-inflammatory action, can hinder alveolar bone healing, in male rats. The animals were divided in 5 experimental groups: a) control (oral administration of 1 mL water/day), b) ceterolac (non-selective COX-1/COX-2 inhibitor - 4 mg/kg/day oral dose), c) nimesulide (preferential COX-2 inhibitor - 5 mg/kg/day oral dose), paracetamol (weak anti-inflammatory - 80 mg/kg/day oral dose), etoricoxib (selective COX-2 inhibitor - 10 mg/kg/day oral dose). The doses of NSAIDs were compatible to human therapy and in the range of investigations carried out in laboratory animals. The drugs were administered by gavage from the day of extraction of the upper right incisors until death 2 weeks later, when the hemi-maxillae containing the alveolar sockets were collected, decalcified and processed for paraffin embedding. Semi-serial longitudinal 6- μ m-thick sections were cut at 60- μ m intervals and stained with hematoxylin and eosin. The degree of new bone formation inside the alveolar socket was estimated by a differential point-counting method, using an optical microscopy with a digital camera for image capture and a public domain histometry software. A total of $1182,9 \pm 47,6$ points (mean $\pm$ SEM) were counted in the cervical alveolar third, in $8,6 \pm 0,3$ (mean $\pm$ SEM) histological sections per alveolus (final magnification 100x), the percentage of points lying on bone trabeculae being proportional to their volume density. After confirmation of a normal distribution (Kolmogorov-Smirnov normality test, $p > 0,10$) and comparison among groups by Analysis of Variance (gl = 4; $F = 1,52$; $\chi^2 = 0,13$), histometric data confirmed that none of the anti-inflammatory drugs have detrimental effects in the volume fraction of new bone trabeculae filling the tooth extraction socket. Although experimental results obtained in animals may not be directly extrapolated to human neither induce to inferences about the clinical use of NSAIDs, numerous evidences have confirmed the deleterious effects of NSAIDs in the orthopedic clinic. Considering the reduced amount of studies on this subject pertaining to the dental field, more investigations are needed varying the experimental parameters and techniques, before the possibility of deleterious effects of NSAIDs in dental procedures requiring new bone formation are discharged.

Key words: bone healing, alveolar healing, cyclooxygenase enzymes, prostaglandins, non-steroidal anti-inflammatory drugs

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	11
2- REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Prostaglandinas e Tecido Ósseo	15
2.1.1 Prostaglandinas e Formação Óssea	16
2.1.2 Prostaglandinas e Absorção Óssea	17
2.1.3 Prostaglandinas, Enzimas COX e AINEs	17
2.2 AINEs e Reparo Ósseo	19
2.2.1 AINEs convencionais: estudos experimentais e clínicos	20
2.2.2 AINEs seletivos para COX-2: estudos experimentais e clínicos	21
2.2.3 AINEs e Reparo Ósseo Alveolar	22
2.3 Conclusão	23
3- PROPOSIÇÃO	24
4- MATERIAIS E MÉTODOS	26
5- RESULTADOS	32
5.1 Período pós-operatório	33
5.2 Análise histológica	34
5.3 Análise histométrica	41
6- DISCUSSÃO	42
7- CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
APÊNDICE	64
ANEXO	65

1- INTRODUÇÃO

As prostaglandinas, eicosanóides derivados do metabolismo do ácido aracônico pela via das enzimas cicloxigenases, formam-se em vários tecidos para desempenhar atividades fisiológicas diversas, ou em resposta a estímulos pró-inflamatórios, contribuindo para o desenvolvimento de sinais e sintomas da inflamação. A enzima COX-1, constitutivamente expressa, cataliza principalmente a formação das prostaglandinas com papel fisiológico, enquanto a enzima COX-2 expressa em baixos níveis nos sítios de inflamação, cataliza, sobretudo a formação das prostaglandinas responsáveis pelo desenvolvimento de edema, dor e febre.

Dentre as inúmeras funções das prostaglandinas está o controle local do metabolismo ósseo, com efeitos ora estimulatórios ora inibitórios, dependendo da situação. O estímulo da absorção óssea pelas prostaglandinas provavelmente desempenha um papel importante na perda óssea decorrente de doenças inflamatórias (inclusive na doença periodontal) e na resposta dos ossos à imobilização prolongada. Inversamente, em resposta ao estímulo mecânico e nas situações de reparo de fraturas e lesões, as prostaglandinas estimulam a formação óssea.

Os anti-inflamatórios não-esteroidais são inibidores da atividade das COX e, portanto, da síntese de prostaglandinas. Esses medicamentos encontram ampla indicação nas clínicas médica e odontológica para controle da dor aguda pós-operatória e têm indicação de uso prolongado para abrandamento da sintomatologia de distúrbios músculo-esqueléticos de natureza inflamatória e reumática. O uso crônico de AINEs convencionais (não-seletivos), que inibem as enzimas COX-1 e COX-2, está normalmente associado ao desenvolvimento de efeitos adversos, sobretudo do trato gastro-intestinal, principalmente em decorrência da inibição da enzima COX-1. Em vista disso, foram desenvolvidos AINEs seletivos, com o intuito de privilegiar os efeitos anti-inflamatórios da inibição de COX-2 com o mínimo dos efeitos indesejados decorrentes da inibição de COX-1.

Embora os resultados sejam ainda controversos, principalmente no que se refere ao tipo de AINE, muitos trabalhos experimentais e clínicos mostram que essa classe de medicamento pode afetar a neoformação óssea reparacional, inibindo o reparo de fratura de ossos longos, a fusão espinhal e a osseointegração de implantes. Conquanto seja de se esperar que pacientes da clínica odontológica necessitados de formação óssea reparacional, incluindo situações de reparo de

cavidades de extração e de osseointegração de implantes dentários, podem estar fazendo uso continuado de AINEs, os relatos de trabalhos desta área são muito raros.

2- REVISÃO de LITERATURA

A formação e a absorção óssea estão sob o controle complexo de hormônios que devem atuar em concentrações precisas, simultaneamente ou na sequência, estabelecendo interações sinérgicas ou antagônicas para garantir uma função celular plena e adequada, responsável pela formação e absorção de matriz num ritmo e duração necessários para a normalidade do tecido ósseo. Para regular o metabolismo ósseo, os hormônios agem em conjunção com fatores locais (citocinas e fatores de crescimento) que participam do controle da proliferação, migração, diferenciação, atividades secretora ou absorviva e apoptose das células ósseas. A lista de citocinas envolve as interleucinas (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11) e o fator de necrose tumoral e, dentre os fatores de crescimento, destacam-se o fator de crescimento derivado de plaquetas, o fator de crescimento epidermal, o fator de crescimento de fibroblastos, o fator de crescimento endotelial vascular, o fator transformador de crescimento beta e, de particular importância como o único fator de indução óssea, as proteínas morfogenéticas do osso (BILEZIKIAN et al., 1996; PHAN et al., 2004). ***Além disso, muitos dos fatores que regulam o metabolismo ósseo, em condições fisiológicas ou patológicas, estimulam a síntese e/ou têm seus efeitos mediados pela liberação de prostaglandinas*** (RAISZ, 1999; 2001; HARDER e AN, 2003; OKADA et al., 2003).

2.1. Prostaglandinas e Tecido Ósseo

O esqueleto é fonte abundante de prostaglandinas, que têm efeitos ora estimulatórios ora inibitórios, desempenhando funções críticas tanto sobre sua fisiologia quanto sobre algumas alterações patológicas; no entanto, dada à complexidade de seu papel, ele não está ainda completamente esclarecido. As respostas às mudanças de forças mecânicas e o reparo de fraturas e lesões ósseas, bem como a perda óssea decorrente da imobilização prolongada e de doenças de natureza inflamatória, são determinados localmente por citocinas, fatores de crescimento e prostaglandinas (RAISZ, 1999; 2001; GAJRAJ, 2003; MIYAUCHI et al., 2004).

No tecido ósseo, as prostaglandinas, principalmente a PGE₂, são produzidas pelos osteoblastos sob estímulo principalmente da enzima COX-2, cuja expressão é regulada pelos hormônios, citocinas e fatores de crescimento que controlam a

remodelação óssea (RAISZ, 1999; 2001; SIMON et al., 2002; OKADA et al., 2003). A enzima COX-1 se expressa principalmente no tecido ósseo normal, enquanto a expressão de COX-2 aumenta durante os estágios iniciais do reparo ósseo e em condições de inflamação e em neoplasias (MIYAUCHI et al., 2004; RADI e KHAN, 2005).

2.1.1. Prostaglandinas e Formação Óssea

O efeito anabólico das prostaglandinas sobre o osso, levando ao aumento da formação e da massa óssea, tem sido amplamente demonstrado pela administração sistêmica de PGE₂ em animais e crianças (RADI e KHAN, 2005). Em situações fisiológicas, notadamente em resposta ao estímulo mecânico, as prostaglandinas produzidas por ativação da COX-2 estimulam a formação óssea determinando o aumento da multiplicação e da diferenciação de osteoblastos, um efeito que está associado ao aumento da produção de fatores de crescimento. A resposta do osso ao estímulo mecânico pode ser abolida pelos AINEs, incluindo os inibidores seletivos de COX-2 (RAISZ, 1999; 2001; HARDER e AN, 2003; GERSTENFELD e EINHORN, 2004).

Estudos recentes mostram que o uso de agonistas de receptores de PGs (particularmente de EP2 e EP4) estimulam o reparo ósseo (GERSTENFELD et al., 2007 para referências). Medidas da variação local da expressão de mRNA de COX-1 e COX-2 durante o reparo de fratura de fêmur de rato mostraram que, enquanto os níveis de COX-1 permanecem constantes, os níveis de COX-2 apresentam um pico de expressão do 3º ao 14º dias, retornando aos níveis basais no 21º dia (GERSTENFELD et al., 2003); os autores sugeriram que a COX-2 deve exercer função importante, embora transitória, nos estágios iniciais do reparo ósseo. Tem-se comprovado também, em modelos experimentais diversos, que os AINEs podem retardar o reparo de lesões ósseas, o que evidencia a participação das PGs na formação óssea reparacional. O papel das prostaglandinas no reparo ósseo tem recebido atenção em estudos recentes que mostram que os AINEs seletivos para COX-2 podem inibir o reparo de fraturas ósseas experimentais (GAJRAJ, 2003; GERSTENFELD et al., 2003; GERSTENFELD e EINHORN, 2004). Os estudos em

camundongos deficientes (*knockout*) para os genes COX-1 e COX-2 mostraram que a função da enzima COX-2 é essencial para o reparo de fraturas ósseas, embora sua ausência não afete a osteogênese fetal (SIMON et al., 2002; ZHANG et al., 2002).

2.1.2. Prostaglandinas e Absorção Óssea

Em algumas situações, notadamente nas de natureza patológica, as prostaglandinas (principalmente a PGE_2) podem estimular a absorção óssea aumentando a quantidade e a atividade funcional dos osteoclastos. Sabe-se que muitos dos fatores de absorção óssea estimulam a produção de prostaglandinas pela indução da enzima COX-2, situações em que o bloqueio do gene para COX-2 resulta em prejuízo da osteoclastogênese. A estimulação da absorção óssea pelas prostaglandinas provavelmente desempenha um papel na perda óssea que ocorre nas doenças inflamatórias (artrites e doença periodontal), na resposta dos ossos à imobilização prolongada e possivelmente na deficiência de estrógeno, o principal mecanismo patogênico na osteoporose (RAISZ, 1999; 2001; HARDER e AN, 2003; MIYAUCHIA et al., 2004).

2.1.3. Prostaglandinas, Enzimas Cicloxigenases e Antiinflamatórios Não-Esteroidais

Os eicosanóides formam-se em resposta a estímulos diversos capazes de ativar a enzima fosfolipase A_2 , que hidrolisa os fosfolípidos de membrana liberando para o citoplasma o ácido aracdônico. O ácido aracdônico liberado servirá de substrato para duas vias enzimáticas distintas, a via das cicloxigenases, que culmina com a formação de tromboxanos e prostaglandinas, e a via das lipoxigenases, que leva à formação dos leucotrienos e outros compostos. As prostaglandinas ditas constitutivas se expressam normalmente em uma variedade de tecidos e órgãos, com atividades fisiológicas bem conhecidas: proteção da mucosa digestória, controle do fluxo sanguíneo renal, homeostasia sanguínea, entre outras. As prostaglandinas ditas indutivas se expressam principalmente em resposta a estímulos inflamatórios e

contribuem para o desenvolvimento do edema, da hiperalgesia e da febre (PARENTE e PERRETTI 2003; CARVALHO et al., 2004; RADİ e KHAN, 2005).

O envolvimento das prostaglandinas em uma grande variedade de patologias humanas foi o elemento propulsor do desenvolvimento dos antiinflamatórios não-esteroidais e responsável pelo fato dessas drogas estarem entre as mais amplamente prescritas em todo o mundo. Os AINEs têm muitas aplicações, dentre elas o controle da febre e a analgesia, tanto no tratamento da dor aguda pós-cirúrgica ou pós-traumática, como no alívio da dor crônica associada aos distúrbios músculo-esqueléticos, à osteoartrite e à artrite reumatóide (GAJRAJ, 2003; GERSTENFELD e EINHORN, 2004).

No início da década de 90 foi comprovada a existência de duas isoformas da enzima COX, ambas com estruturas similares e catalisando essencialmente a mesma reação, ou seja, a transformação do ácido aracdônico em prostaglandinas. Supôs-se, então, que a isoforma COX-1 catalisasse a síntese das prostaglandinas constitutivas e que a isoforma COX-2 catalisasse a síntese das prostaglandinas indutivas. Mais recentemente, no entanto, ficou comprovado que não existe uma divisão tão precisa nas atividades das duas isoformas, isto é, a enzima COX-1 parece ter também um papel significativo nas inflamações, principalmente na hiperalgesia, e a COX-2 se expressa constitutivamente em vários órgãos, sendo importante mediador das funções renal, reprodutiva e nervosa, contribuindo também para a citoproteção da mucosa digestória e para a homeostasia sangüínea (SIMMONS et al., 2000; PARENTE e PERRETTI, 2003).

Nas décadas de 60 e 70 uma diversidade de drogas com ação anti-inflamatória tornou-se disponível no mercado, entre elas a indometacina, o ibuprofeno e o diclofenaco (SIMMONS et al., 2000). Esses AINEs convencionais, no entanto, assim como a aspirina, ao lado da ação terapêutica exercem efeitos colaterais indesejados, sobretudo no trato digestório e nos rins. Considera-se que a ação terapêutica dos AINEs deve-se principalmente à inibição da enzima COX-2, enquanto os efeitos indesejados devem-se sobretudo à inibição da COX-1 (SIMMONS et al., 2000).

Com a descoberta da COX-2 em 1991 (XIE et al., 1991), a indústria farmacêutica passou a investir maciçamente no desenvolvimento de AINEs seletivos para essa enzima, na busca de medicamentos com ação terapêutica potente mas sem os efeitos colaterais indesejados. Esses medicamentos – celecoxibe (Celebra®),

Pfizer), rofecoxibe (Vioxx®, Merck) e valdecoxibe (Bextra®, Pfizer) - tornaram-se disponíveis no mercado a partir de 1999 (SIMMONS et al., 2000; MELNIKOVA, 2005), apresentando ação anti-inflamatória efetiva e riscos significativamente menores de toxicidade gastrointestinal, comparativamente aos AINEs convencionais, prometendo resolver a morbidade associada ao uso prolongado de anti-inflamatórios, particularmente nas doenças crônicas de natureza inflamatória como a artrite reumatóide e a osteoartrite. Mais recentemente, o uso prolongado de inibidores seletivos de COX-2 vem emergindo também como uma possibilidade preventiva e terapêutica para outras doenças em que ocorre aumento da expressão da COX-2, como é o caso da espondilite anquilosante, da gota, de certos tipos de cânceres, notadamente os de origem epitelial, e do mal de Alzheimer (CHANDRASEKHARAN e SIMMONS, 2004; ARDOIN e SUNDY, 2006).

No entanto, o uso prolongado de alguns desses AINEs seletivos mostrou-se deletério para a função renal e para a homeostasia sangüínea, oferecendo risco aumentado de trombose e infarto (MELNIKOVA, 2005). Diante disso, o rofecoxibe (Vioxx®) foi retirado do mercado em setembro de 2004 e o valdecoxibe (Bextra®) em abril de 2005, permanecendo, com tarja preta para venda, apenas o celecoxibe (Celebra®, Pfizer), além de uma segunda geração de produtos como o etoricoxibe (Arcoxia®, Merck) e o parecoxibe (Dynastal®, Pfizer - uma pro-droga do valdecoxibe), comercializados nos Estados Unidos e em mais 45 países, e o lumiracoxibe (Prexige®, Norvasti), aprovado para uso no Reino Unido (MELNIKOVA, 2005). O etoricoxibe foi retirado do mercado nos Estados Unidos em abril de 2007 e o lumiracoxibe foi retirado do mercado na Austrália em 2008. Atualmente, uma nova droga desta natureza (denominada de robenacoxibe) é objeto de experimentação pré-clínica em ratos, para utilização sugerida em cães e gatos (KING et al., 2009).

2.2. Anti-inflamatórios Não-Esteroidais e Reparo Ósseo

Parece que a utilização de AINEs, mesmo que prolongada, raramente está associada com efeitos adversos sobre o metabolismo ósseo normal. Além disso,

observações clínicas sugerem o uso terapêutico de AINEs para prevenção da perda óssea e o tratamento da osteoporose, em mulheres idosas (RADI e KHAN, 2005). Adicionalmente, alguns trabalhos sugerem um efeito benéfico dos AINEs convencionais (HOIKKA et al., 1990; KJAERGAARD-ANDERSEN et al., 1993; PRITCHETT, 1995; MOORE et al., 1998) e seletivos para COX-2 (SAUDAN et al., 2007; GROHS et al., 2007; VAN der HEIDE et al., 2007a, b) impedindo a ossificação heterotópica*. Resultados pré-clínicos e clínicos também indicam que os AINEs convencionais e seletivos podem ser úteis no tratamento da doença periodontal, por reduzirem o ritmo de absorção do osso alveolar (SALVI e LANG, 2005).

Os possíveis efeitos deletérios dessas drogas sobre o reparo ósseo, no entanto, tem sido objeto de muita investigação clínica e experimental nas últimas 3 décadas, com resultados ainda controversos. A maior parte dos trabalhos experimentais tem utilizado os modelos da fratura de ossos longos e da fusão espinhal, este último um processo de “soldagem” pelo quais duas ou mais vértebras são presas umas às outras por meio de um enxerto ósseo e de um pino de metal, de forma a se reparar na forma de um único bloco de tecido ósseo.

2.2.1. AINEs convencionais: estudos experimentais e clínicos

A indometacina tem sido utilizada como padrão de AINE não-seletivo e como controle positivo em ***trabalhos experimentais*** que testam à ação de novas drogas dessa natureza. A maioria dos trabalhos mostra que sua utilização prolongada (2 a 12 semanas) retarda o reparo de osso longo e a fusão espinhal em animais e previne a ossificação heterotópica em animais e humanos (BO et al., 1976; ALLEN et al., 1980; KELLER et al., 1987; KJAERGAARD-ANDERSEN et al., 1993; MOED et al., 1994; ALTMAN et al., 1995; DIMAR et al., 1996; MOORE et al., 1998; LONG et al., 2002; SIMON et al., 2002; BROWN et al., 2004). Uma exceção é o trabalho

* ossificação heterotópica é um processo metaplásico em que há neoformação óssea em tecidos moles adjacentes às grandes articulações, onde este tecido não seria normalmente encontrado, portanto um processo que envolve deposição óssea ectópica patológica, freqüente em pacientes submetidos a intervenções de artroplastia total de quadril.

recente de Mullis et al. (2006), em que nem a indometacina nem outros AINEs seletivos e não-seletivos interferiram de forma significativa com o reparo da tíbia de camundongos.

Os demais AINEs convencionais (aspirina, diclofenaco, ibuprofeno, etodolaco, ceterolaco) podem interferir negativamente com a neoformação óssea reparacional **experimental**, inibindo o reparo de fratura de ossos longos e a fusão espinal (ALLEN et al., 1980; ALTMAN et al., 1995; HO et al., 1995; 1998; MARTIN et al., 1999; GERSTENFELD et al., 2003; 2007; ENDO et al., 2005; SASSIOTO et al., 2006; KRISCHAK et al., 2007), embora alguns trabalhos tenham falhado em confirmar o efeito negativo destes AINEs (HUO et al., 1991; AKMAN et al., 2002, MULLIS et al., 2006).

Quanto aos **estudos clínicos**, em que pese o fato de que muitos deles sejam retrospectivos, e, portanto outros fatores não controlados podem estar interferindo com o processo de reparo (GERSTENFELD et al., 2003), a literatura sugere que os AINEs convencionais podem interferir negativamente com o reparo de fratura de ossos longos e com a taxa de fusão espinal (DEGUCHI et al., 1998; GLASSMAN et al., 1998; GIANNOUDIS et al., 2000; BURD et al., 2003; REUBEN et al., 2005), além de serem efetivos na prevenção da ossificação heterotópica (HOIKKA et al., 1990; KJAERGAARD-ANDERSEN et al., 1993; PRITCHETT, 1995; MOORE et al., 1998). Alguns estudos clínicos, no entanto, falharam em demonstrar a eficácia do meloxicam (BARTHEL et al., 2002), ibuprofeno (FRASEN et al., 2006, SAUDAN et al., 2007) e indometacina (KARUNAKAR et al., 2006) em prevenir a ossificação heterotópica.

2.2.2. AINEs seletivos para COX-2: estudos experimentais e clínicos

Os **resultados experimentais** relativos aos efeitos dos AINEs seletivos para COX-2 sobre o reparo ósseo são recentes, menos numerosos e também controversos. Embora o celecoxibe, o rofecoxibe, o parecoxibe e o valdecoxibe tenham sido capazes de interromper o reparo de fratura de fêmur de ratos (SIMON et al., 2002; BERSTENSTOCK et al., 2005; MURNAGHAN et al., 2006; GERSTENFELD et al., 2003; 2007; SIMON e O'CONNOR, 2007; DIMEN et al.,

2008), o celecoxibe não interferiu de forma consistente com o reparo de fratura de fêmur de ratos (BROWN et al., 2004), de tíbia de camundongos (MULLIS et al., 2006) e ratos (MATSUMOTO et al., 2008) e com a taxa de fusão espinhal de coelhos (LONG et al., 2002). O rofecoxibe inibiu o crescimento ósseo para o interior de câmara implantada em tíbia de coelhos (GOODMAN et al., 2002, 2005).

Embora controversos, a questão que emerge dos resultados experimentais é se pacientes que necessitam de formação óssea reparacional, incluindo situações de reparo de fraturas, de fusão espinhal e de osteointegração de implantes ortopédicos, poderiam ser tratados com segurança com AINEs seletivos para COX-2 (GERSTENFELD e EINHORN, 2004; SEIDENBERG e AN, 2004). Numerosos estudos clínicos retrospectivos relatam os efeitos adversos dos AINEs sobre o reparo ósseo, no entanto faltam estudos prospectivos controlados para comprovar este efeito (GERSTENFELD et al., 2007 para referências).

2.2.3. Antiinflamatórios Não-Esteroidais e Reparo Ósseo Alveolar

Denomina-se reparo alveolar o preenchimento da cavidade de extração dental por tecido ósseo neoformado. ***Existem muito poucos relatos de trabalhos experimentais ou clínicos visando avaliar os efeitos dos AINEs sobre o reparo ósseo alveolar.***

Trabalhos da década de 70, dos quais não foi possível conseguir o texto completo ou o resumo, estudaram os efeitos do ácido acetilsalicílico (SCHUBERT, 1973) e da indometacina (HUUSKO et al., 1975) sobre o reparo alveolar. Um estudo histológico em cães mostrou que cavidades de extração de caninos preenchidas com cones de aspirina repararam-se sem diferença significativa com cavidades não-preenchidas (BARATIERI e DELI, 1979). Em ratos, o tratamento agudo com diclofenaco causou atraso significativo no reparo da cavidade de extração de incisivos maxilares (YUGOSHI et al., 2002).

As investigações clínicas são igualmente raras e referem-se à administração de AINEs por curto tempo para alívio do edema e da dor no pós-operatório da extração de terceiros molares impactados. Alguns desses trabalhos relatam que, ao exame clínico, não pareceu haver atraso no reparo alveolar após tratamento com

ibuprofeno (LOKKEN e t al., 1975), com aspirina e diclofenaco (BAILEY et al., 1993) ou com flurbiprofeno (BATTISTI, 1994).

2.3. Conclusão

Embora ainda necessitando de comprovação final, particularmente em humanos, é provável que diferentes AINEs determinem alterações específicas na produção de prostaglandinas estimulada por COX-1 e/ou COX-2, levando a diferentes respostas biológicas com conseqüências negativas para o reparo ósseo. Essas particularidades, tanto no que diz respeito às diferentes espécies animais ou a humanos, quanto no que se refere aos diversos tipos de ossos e modelos de estudo de reparo, devem ser melhor compreendidas para que se entendam as variações na resposta reparacional produzidas por diferentes inibidores da atividade das COX.

3- PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar, quantitativamente, o efeito de diferentes tipos de AINEs (convencional, preferencial e seletivo para COX-2), assim como de um analgésico com efeito anti-inflamatório fraco, sobre o reparo ósseo alveolar, em ratos.

Realizado na mesma espécie animal e utilizando o mesmo modelo experimental, foram eliminadas neste estudo as diferenças espécie-específicas e entre tipos de ossos que poderiam interferir com os resultados e inviabilizar possíveis comparações.

4- MATERIAIS e MÉTODOS

Foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar) com peso corporal variando ao redor de 250 g, obtidos no Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto – USP. Os animais foram mantidos em condições controladas de iluminação (12 horas luz/12 horas escuro) e temperatura ($22 \pm 3^\circ \text{C}$), acondicionados em caixas plásticas (no máximo 5 animais por caixa), recebendo água e ração comercial balanceada a vontade, exceto pela suspensão do alimento sólido nas primeiras 24 horas após a extração dental. Todos os procedimentos foram realizados em concordância com os princípios éticos estabelecidos para a experimentação animal e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP (Protocolo 117/2006).

Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais (n = 7-11 por grupo):

- a) grupo **controle**: 1 mL de água administrada diariamente por gavagem gástrica pelo período de 2 semanas;
- b) grupo **cetorolaco de trometamina** (Toragesic, Sigma Pharma, Hortolândia, SP, Brasil): 4 mg/kg/dia em 1 mL de solução administrada por gavagem gástrica pelo período de 2 semanas;
- c) grupo **nimesulida** (Nimesulida, Medley S.A., Campinas, SP, Brasil): 5 mg/kg/dia em 1 mL de solução administrada por gavagem gástrica pelo período de 2 semanas;
- d) grupo **etoricoxibe** (Arcoxia, Merk do Brasil, São Paulo, SP, Brasil): 10 mg/kg/dia em 1 mL de solução administrada por gavagem gástrica pelo período de 2 semanas;
- e) grupo **paracetamol** (Paracetamol, Biossintética Farmacêutica Ltda, São Paulo, SP, Brasil): 80 mg/kg/dia em 1 mL de solução administrada por gavagem gástrica pelo período de 2 semanas.

Extração Dental. Os animais foram anestesiados com solução de Cloridrato de Cetamina 10% (Ketamina Agener, União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu, SP, Brasil; 75 mg/kg) associada à Xilazina (Dopaser, Laboratórios Calier S/A, Barcelona, Espanha; 10 mg/kg), administradas por via intraperitoneal. Para a exodontia do incisivo superior direito foi utilizado material cirúrgico adaptado

para esta finalidade (Figura 1), sob condições apropriadas de esterilização/desinfecção. A seqüência operatória obedeceu às seguintes etapas: sindesmotomia, luxação, avulsão e sutura com fio mononylon 4.0 (Ethicon 4-0, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil) (Figura 2). Após a exodontia, os animais receberam uma dose de antibiótico veterinário polivalente para animais de pequeno porte (Pentabiótico Veterinário, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, SP, Brasil; 0,2 mL via intramuscular) que se repetiu 5 dias após a cirurgia.

Figura 1. Material utilizado para exodontia.

Figura 2. Sequência operatória.

Sacrifício, Coleta e Processamento das Hemi-Maxilas Direitas. Duas semanas após a cirurgia os animais foram sacrificados por aplicação de dose excessiva de anestésico, as mandíbulas foram separadas das maxilas com o auxílio de uma tesoura e a maxila direita separada da esquerda por uma incisão ao nível do plano sagital mediano, acompanhando a sutura intermaxilar. Um corte com tesoura reta tangenciando a face distal dos molares possibilitou a obtenção da peça contendo o alvéolo dental superior direito (Figura 3). As peças assim obtidas foram fixadas por imersão em solução de formol a 10% durante 48 horas e a seguir descalcificadas por 4 dias em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 30%, trocando-se a solução a cada 48 horas. Após lavagem por 24 horas em água corrente, as peças foram desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina, orientadas de maneira a permitir cortes semi-seriados longitudinais de 6 μm de espessura (a intervalos de 60 μm), que foram corados pela hematoxilina e eosina.

Figura 3. Coleta do alvéolo.

Análise Histométrica do Alvéolo Dental. A fração de volume (volume percentual) dos componentes reparacionais da ferida de extração dental foi estimada por método de contagem diferencial de pontos (Figura 4), utilizando-se um microscópio óptico (Zeiss Axiostar Plus, Gottingen, Germany) munido de câmera digital de vídeo para captura de imagens (Zeiss Axiocam IC, Gottingen, Germany) e um programa para histometria de domínio público (Image J, version 1.38, criado por Wayne Rasband do Instituto de Saúde Mental de Bethesda, Maryland, USA, disponível no sítio www.mcbiophotonics.ca/imagej). Foram contados cerca de 1200 pontos ($1182,9 \pm 47,6$ pontos; média $\pm$ EPM) no terço cervical alveolar de cada animal, em cerca de 8 secções histológicas ($8,6 \pm 0,3$ secções; média $\pm$ EPM) (Tabela 1 do Apêndice). O processo reparacional, que nesta fase caracteriza-se pela transformação progressiva de tecido conjuntivo em tecido ósseo, foi estimado pelo percentual de pontos contados sobre trabéculas ósseas neoformadas relativamente ao total de pontos contados no interior da cavidade de extração dental.

Figura 4. Contagem diferencial de pontos

Análise Estatística. A comparação entre os resultados dos diferentes grupos experimentais foi realizada pela Análise de Variância ($p < 0,05$ para significância estatística), depois de verificada a normalidade da distribuição dos dados amostrais (teste de Kolmogorov-Smirnov) (Tabela 1 do Apêndice).

5- RESULTADOS

5.1. Período Pós-Operatório

A observação diária mostrou os animais de todos os grupos experimentais apresentando bom estado de saúde geral; a evolução de peso corporal, avaliado no início do experimento e ao final da primeira e segunda semanas, corroborou esta avaliação (Figura 5).

Apesar disso, alguns animais dos grupos controle e tratados morreram logo após ou durante o período de 2 semanas pós-exodontia, por motivos não identificados. O material histológico de alguns animais dos diferentes grupos mostrou-se impróprio para avaliação, seja pela presença de fragmentos de raiz dental ou de abscessos intra-alveolares, seja pelo processamento histológico inadequado. Por isso o experimento foi repetido, constituindo-se os mesmos 5 grupos, cujos animais se somaram aos do primeiro experimento. Em decorrência disso observa-se pequena variação no número de animais que constituem os diferentes grupos experimentais.

Figura 5. Peso corporal dos animais dos grupos controle (Con) e tratados com nimesulida (Nim), cetorolaco (Cet), etoricoxibe (Eto) e paracetamol (Par).

5.2. Análise Histológica

5.2.1. Grupo Controle

Ao final da 2ª semana, as cavidades de extração dental estavam preenchidas por tecido conjuntivo com infiltrado inflamatório pouco perceptível e entremeado por trabéculas ósseas delicadas que delimitavam espaços medulares amplos e de formato irregular (Figuras 6A, B). O trabeculado ósseo formava-se a partir das paredes ósseas apical e laterais, com predomínio aparente de atividade osteogênica na face vestibular comparativamente à palatina (Figuras 7A, B). Em alguns animais, áreas por vezes extensas, de ocorrência predominante na região central dos terços apical e médio, eram ocupadas por remanescentes do coágulo sangüíneo (Figuras 8 A, B).

5.2.2. Grupos Tratados

Comparando com os animais controles, o aspecto histológico do reparo alveolar dos ratos tratados com cetorolaco (Figura 9A, B), nimesulida (Figura 10A), etoricoxibe (Figura 10B) e paracetamol (Figura 11A, B) obedeceu à mesma seqüência de eventos teciduais, não apresentando diferenças histológicas perceptíveis quanto ao ritmo e a qualidade da atividade osteogênica reparacional.

Figura 6. Cavidade de extração dental de ratos controles ao final da 2ª semana pós-extração, mostrando trabéculas ósseas neoformadas (A - aumento original 50X; B - aumento original 100x; Hematoxilina e Eosina).

Figura 7. Cavidade de extração dental de ratos controles ao final da 2ª semana pós-extração, mostrando trabéculas ósseas (*) formando-se a partir de osso cortical da parede óssea lateral (POL) e evidenciando predomínio de formação óssea na face vestibular (FV) comparativamente à face palatina (FP) (A - aumento original 100x; B - aumento original 50x; Hematoxilina e Eosina).

Figura 8. Cavidade de extração dental de ratos controles ao final da 2ª semana pós-extração, mostrando remanescentes do coágulo sangüíneo (CS) entremeados a trabéculas ósseas neoformadas, nos terços apical (A - aumento original 50x) e médio (B - aumento original 100x) (Hematoxilina e Eosina).

Figura 9. Cavidade de extração dental de ratos tratados com cetorolaco ao final da 2ª semana pós-extração, mostrando trabéculas ósseas formando-se a partir de parede óssea lateral da face vestibular (POL) (aumento original 100x; Hematoxilina e Eosina). A) o quadro resalta células da linhagem osteoblástica circundando trabécula óssea neoformada; B) remanescente do coágulo sanguíneo (CS).

Figura 10. Cavidade de extração dental de ratos tratados com nimesulida (A) e etoricoxibe (B) ao final da 2ª semana pós-extração, mostrando trabéculas ósseas formando-se a partir de parede óssea lateral (POL) da face vestibular (aumento original 100x; Hematoxilina e Eosina).

Figura 11. Cavidade de extração dental de ratos tratados com paracetamol ao final da 2ª semana pós-extração (aumento original 100x; Hematoxilina e Eosina). A) trabéculas ósseas formando-se a partir de parede óssea lateral (POL) da face vestibular; B) remanescente do coágulo sangüíneo (CS) e, no quadro, células da linhagem osteoblástica circundando trabécula óssea neoformada

5.3. Análise Histométrica

A análise histométrica do reparo dos ratos controles e tratados foi realizada no terço cervical do alvéolo dental, por ser esta a região que apresentou, no geral, neoformação óssea mais homogênea e consistente, com quantidades mínimas de remanescentes de coágulo sanguíneo. O percentual de trabéculas ósseas neoformadas observado nos animais tratados dos diferentes grupos experimentais foi estatisticamente semelhante ao dos controles (Figura 12).

Figura 12. Percentual de trabéculas ósseas neoformadas (média $\pm$ EPM) no terço cervical do alvéolo dental de ratos controles (Con) e tratados com cetorolaco (Cet), nimesulida (Nim), etoricoxibe (Eto) e paracetamol (Par), 2 semanas após a extração dental (Análise de Variância, $p = 0,2140$).

6- DISCUSSÃO

No presente trabalho, o reparo ósseo alveolar seguiu o padrão histológico descrito na literatura, tanto no grupo controle quanto nos diferentes grupos tratados.

Este é um modelo que tem sido bastante estudado em animais e humanos quanto à sua cronologia, controle e eventos moleculares (LIN et al., 1994; LAMANO CARVALHO et al., 1997; SODEK e MC KEE, 2000; DEVLIN e SLOAN, 2002; ELSUBEIHI e HEERSCHKE, 2004).

O reparo alveolar visa à recuperação morfológica e funcional dos tecidos ósseo e epitelial de revestimento, tendo início imediatamente após a exodontia com o preenchimento da cavidade de extração por coágulo sangüíneo e culminando com seu preenchimento por tecido ósseo neoformado. Logo que se forma, o coágulo sangüíneo é invadido por células endoteliais e fibroblastos originados de restos do ligamento periodontal e dos tecidos circunjacentes. Estas células proliferam e dão origem a brotamentos capilares e fibrilas colágenas delicadas que, juntamente com o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, constituem o tecido de granulação; este tecido amadurece a medida em que aumenta a quantidade de fibras colágenas e diminui o número de células e de vasos sanguíneos.

Concomitantemente a isto, células osteoprogenitoras originadas de restos do ligamento periodontal (LIN et al., 1994) e do tecido ósseo das paredes alveolares (DEVLIN, 2000) migram para o interior do tecido conjuntivo e diferenciam-se em osteoblastos por ação de fatores de crescimento presentes no coágulo sangüíneo, dentre eles o PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), que estimula a proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal e sua migração para o interior do coágulo nos estágios iniciais do reparo, e o TGF- β (fator transformador de crescimento-beta), importante na fase final de diferenciação dos osteoblastos (LIN et al, 1994). Os osteoblastos sintetizam uma matriz óssea orgânica (osteóide) que é posteriormente mineralizada pela deposição de cálcio sob a forma de cristais de hidroxiapatita. A neoformação óssea se dá a partir do *fundus* e das paredes vestibular e palatina em direção ao centro do alvéolo.

O reparo se completa quando a cavidade alveolar se encontra totalmente preenchida por trabéculas ósseas maduras e a crista alveolar remodelada, o que ocorre por volta do 64º dia no homem (DEVLIN e SLOAN, 2002) e do 48º dia no cão (ARAÚJO e LINDHE, 2005). No rato, considera-se que o reparo se completa por volta do 21º dia (ELSUBEIHI e HEERSCHKE, 2004), embora haja evidência de

neoformação óssea discreta até por volta da 6ª semana (LAMANO CARVALHO et al., 1997). Análises quantitativas mostraram que, no rato, a maior proporção de formação óssea (GUGLIELMOTTI e CABRINI, 1985) e a máxima densidade óssea mineral (ELSUBEIHI & HEERSCHKE, 2004) acontecem ao final da segunda semana pós-extração dental, o período escolhido para avaliação do reparo no presente trabalho.

No presente trabalho, os ratos foram tratados com diferentes AINEs (cetorolaco, nimesulida e etoricoxibe), classificados quanto à capacidade de inibição relativa das enzimas COX-1 e COX-2.

A seletividade para a enzima COX-2 tem sido avaliada principalmente por ensaios *in vitro*, incluindo ensaios com enzima recombinante humana, cultura de células e sangue total. Nos ensaios com sangue total, a síntese de tromboxano (TX-B₂) por plaquetas durante a formação do coágulo é usada como índice de atividade da COX-1 e a síntese de PGE₂ (principalmente por monócitos) em sangue incubado com lipopolissacarídeo é usada como índice da atividade de COX-2. Calcula-se, então, a concentração inibitória 50% (IC₅₀), que representa a concentração da droga que, sob condições controladas, inibe 50% da atividade da COX. Para avaliação de seletividade é utilizado um índice de especificidade relativa entre as isoformas de COX, expresso como o índice IC₅₀ para COX-1/COX-2. Embora alguns autores considerem os métodos *in vitro* apropriados para medir a atividade das enzimas COX-1 e COX-2 e sugiram haver uma correlação forte entre as atividades de COX-1 em plaquetas e na mucosa gastrointestinal, outros autores ponderam que os índices obtidos de ensaios com sangue total não refletem a complexidade da interação droga-enzima e a quantidade real de inibição *in vivo*, nem a predisposição aos efeitos adversos gastrointestinais e a eficácia clínica dos AINEs (RINDEAU et al., 2001; GAJRAJ, 2003).

O Quadro 1 a seguir apresenta a classificação de alguns AINEs segundo a seletividade para COX-2 e respectivos valores de IC₅₀ COX-1/COX-2, obtidos em ensaios em sangue total humano (WARNER et al., 1999; RINDEAU et al., 2001; GAJRAJ, 2003).

Quadro 1. Classificação de alguns AINEs quanto a capacidade de inibição das enzimas COX-1 e COX-2 – valores obtidos em ensaios realizados com sangue total humano.

AINE	IC ₅₀ COX-1/COX-2* (RINDEAU et al., 2001)	% Inibição COX-2/COX-1** (WARNER et al., 1999)	Classificação (WARNER et al., 1999)
Ibuprofeno	0,2	80 / 90 (%)	pobre (não-seletivo) (< 5x)
Indometacina	0,4	80 / 80-90 (%)	pobre (não-seletivo) (< 5x)
Meloxicam	2,0	80 / 20-30 (%)	preferencial (5-50x)
Etodolaco	2,4	80 / 20-30 (%)	pobre (não-seletivo) (< 5x)
Cetorolaco		80 / 100 (%)	pobre (não-seletivo) (< 5x)
Diclofenaco	3	80 / 60-70 (%)	pobre (não-seletivo) (< 5x)
Nimesulida	7,3	80 / 40 (%)	preferencial (5-50x)
Celecoxibe	7,6	80 / 60 (%)	preferencial (5-50x)
Valdecoxibe	30		
Rofecoxibe	35	80 / 10-20 (%)	seletivo (> 50x)
Etoricoxibe	106		

* índice de especificidade relativa entre as isoformas de COX

** porcentagem de inibição de COX-1 quando COX-2 é inibida em 80%

O **cetorolaco** é um anti-inflamatório não-esteroidal convencional (não-seletivo) que, na dose utilizada (4 mg/kg/dia), exerce efeito inibitório **preferencial para COX-1**. Testes realizados em sangue total humano mostraram que, dentre 28 AINEs, o cetorolaco mostrou a maior capacidade relativa de inibição da enzima COX-1 (WARNER et al., 1999). Em ratos, doses maiores que 1 mg/kg inibem 95% da atividade da COX-1, doses iguais ou menores que 3 mg/kg não interferem com a atividade da COX-2, doses de 10 e 30 mg/kg inibem a atividade da COX-2 em 75% e 95% respectivamente (WALLACE et al., 2000 - doses testadas: 0,3, 1, 3, 10 e 30 mg/kg). Em ratas, doses de 3,2 ou de 5,6 mg/kg atingem concentrações sanguíneas semelhantes após 4 horas e produzem máximo efeito analgésico (GRANADOS-SOTO et al., 1995, doses testadas: 0,3, 1, 1,8, 3,2 e 5,6 mg/kg). A dose de

cetorolaco utilizada no presente trabalho baseou-se em relatos de atraso significativo no reparo de fratura de fêmur de rato (GERSTENFELD et al., 2003; 2007).

A **nimesulida** foi escolhida como um anti-inflamatório não-esteroidal **preferencial para COX-2**. Teste em sangue total humano mostrou seletividade da nimesulida 20 vezes maior para a COX-2 de monócitos do que para a COX-1 plaquetária (PANARA et al., 1998). Resultados *in vitro* mais recentes confirmam esta preferência da nimesulida, mas mostram um valor de concentração inibitória 50% (IC₅₀ COX-1/COX-2) de 7,3 (seletividade cerca de 7 vezes maior para COX-2 do que para COX-1) (RINDEAU et al., 2001). Estudo *in vivo* utilizando um modelo experimental de inflamação aguda (formação de TXB₂ no soro *versus* formação de PGE₂ no exsudato inflamatório) confirmou a nimesulida como um AINE preferencial para COX-2 – enquanto a dose de 0,60 mg/kg de peso corporal provocou 80% de inibição da formação de PGE₂, o mesmo percentual de 80% de inibição da formação de TXB₂ foi atingido com a dose de 45,70 mg/kg (GAMBERO et al., 2005). A dose de nimesulida utilizada no presente trabalho (5 mg/kg/dia) baseou-se em estudos de genotoxicidade (KHAN et al., 2003) e ED₅₀ (dose farmacologicamente efetiva para 50% da população que a recebe – JAIN et al., 2002); não foram encontradas investigações acerca de uma possível ação da nimesulida sobre o metabolismo ósseo.

O **etoricoxibe** é um novo anti-inflamatório não-esteroidal **seletivo para COX-2**. Resultados de atividade *in vitro* de COX-1 plaquetária e de COX-2 em monócitos humanos mostraram inibição de COX-2 de 106 vezes (RINDEAU et al., 2001) ou 344 vezes (TACCONELL et al., 2002; PATRIGNANI et al., 2003) maior que a inibição de COX-1. Em ratos, doses de 9 mg/kg/dia não causaram dano à mucosa gástrica (AZOUBEL et al., 2007) e doses de 12 mg/kg/dia causaram diarreia e pequena perda de peso corporal em apenas 10% dos animais (HOLZHAUSEN et al., 2005). A dose de etoricoxibe utilizada no presente trabalho (10 mg/kg/dia) foi compatível com relatos de redução de perda óssea em doença periodontal (HOLZHAUSEN et al., 2005) e de controle de hiperalgesia (RINDEAU et al., 2001, para referência), ambos em ratos. Não foram encontrados relatos de sua possível ação em estudos de reparo ósseo.

Em outubro de 2008, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) suspendeu a comercialização da apresentação de 120 mg do etoricoxibe, mantendo as apresentações de 60 e 90 mg, que poderão ser vendidos com retenção de receita

médica e adequação das bulas com inclusão de advertências sobre os possíveis efeitos adversos (<http://www.anvisa.gov.br>). Permanece, portanto, o interesse do presente estudo, seja no tocante à utilização clínica prolongada do medicamento em doenças crônicas como reumatismo, gota, artrite e dores articulares, seja como um inibidor seletivo experimental de COX-2.

A análise histométrica confirmou que o percentual de trabéculas ósseas neoformadas no interior da cavidade de extração dental dos ratos tratados com ceterolaco, nimesulida e etoricoxibe foi estatisticamente semelhante ao dos controles.

São raros os estudos experimentais que avaliaram os efeitos dos AINEs sobre o reparo ósseo alveolar. Baratieri e Deli (1979) estudaram o efeito de cones de **aspirina** colocados no interior da cavidade alveolar de cães, imediatamente após a extração dental. Os animais foram sacrificados 2, 4, 6 e 8 semanas após e a observação histológica não mostrou diferença aparente no reparo ósseo em comparação com o grupo controle. Os autores admitiram que os cones não devem ter permanecido no alvéolo por mais do que 2 ou 3 dias. Mais recentemente, Yugoshi et al. (2002) trataram ratos com **diclofenaco** (10mg/kg/dia) por 1, 2 e 3 semanas após a extração dental; utilizando método histométrico mostraram atraso significativo na neo-formação óssea em todos os períodos analisados, associado a um atraso na organização e remissão do coágulo sangüíneo.

Os trabalhos da área ortopédica são numerosos e mostram, no geral, que os AINEs podem inibir a formação óssea em modelos experimentais de reparo de fratura de ossos longos, fusão espinhal e ossificação heterotópica, embora alguns trabalhos contradigam estas observações (ver Anexo). As aparentes controvérsias nos resultados experimentais têm sido atribuídas a fatores como dose e tempo de tratamento, idade do animal, diferenças espécie-específicas na sensibilidade a drogas, farmacocinética das drogas em animais comparativamente a humanos e ritmo de remodelação óssea (RADI e KHAN, 2005; MULLIS et al., 2006; RINDEAU et al., 2001; FERRY et al., 2007). Analisando-se os relatos da literatura, pode-se observar que os resultados discrepantes muitas vezes, mas nem sempre, podem ser explicadas por diferenças nos protocolos experimentais.

O tratamento com **ibuprofeno**, em doses e tempos semelhantes, ora provocou atraso significativo (ALTMAN et al., 1995) ora não interferiu com o reparo

de fratura de fêmur de rato (HUO et al., 1991) e de tíbia de camundongo (MULLIS et al., 2006) – neste último caso, a diferença entre espécies pode ter sido um fator interveniente.

Apesar das diferenças de doses, vias e tempos de administração, o tratamento com **indometacina** reduziu a formação óssea em modelos de fratura de fêmur, rádio e ulna e na fusão espinhal de ratos, bem como na fusão espinhal e ossificação heterotópica em coelhos (BO et al., 1976; ALLEN et al., 1980; KELLER et al., 1987; MOED et al., 1994; ALTMAN et al., 1995; DIMAR et al., 1996; LONG et al., 2002; SIMON et al., 2002; BROWN et al., 2004). Como exceção, a administração de indometacina em doses e tempos compatíveis com os anteriores não interferiu com o reparo de tíbia de camundongo (MULLIS et al., 2006) - a diferença entre espécies é um fator a ser considerado.

Diferenças de dose e período de observação devem explicar as diferenças nos resultados relativos ao tratamento com **diclofenaco** – embora dose pequena por curto tempo não tenha interferido com o reparo de fratura de tíbia de rato (AKMAN et al., 2002), dose maior por tempo mais prolongado (KRISCHAK et al., 2007) ou mesmo em uma única administração (SASSIOTO et al., 2006) provocou atraso significativo.

O **cetorolaco** provocou redução na formação óssea na maioria dos modelos experimentais analisados (fratura de fêmur, fusão espinhal, osteotomia de ulna), em ratos e coelhos (HO et al., 1995; 1998; MARTIN et al., 1999; GERSTENFELD et al., 2003; 2007) mas, apesar das doses e tempos compatíveis, não interferiu com o reparo de tíbia de camundongos (MULLIS et al., 2006).

Os estudos com AINEs seletivos para COX-2 são menos numerosos mas também mostram, no geral, atraso na formação óssea. O **rofecoxibe**, **valdecoxibe** e **parecoxibe** reduziram a formação óssea em modelos experimentais de fratura de fêmur e tíbia de rato e em tíbia de coelho (SIMON et al., 2002; GOODMAN et al., 2002; 2005; GERSTENFELD et al., 2003; 2007; MURNAGHAN et al., 2006; DIMEN et al., 2008). Uma exceção foi o trabalho de Mullis et al. (2006), que falharam em mostrar efeito negativo do tratamento com rofecoxibe sobre o reparo de tíbia de camundongo, não obstante tenham utilizado doses e tempos de tratamento compatíveis aos do trabalho de Murnaghan et al. (2006), que mostraram atraso significativo no reparo de fratura de fêmur de rato. A diferença entre espécies pode ser um fator responsável pela diferença nos resultados.

Os resultados de trabalhos com **celecoxibe** são particularmente controversos. Tratamentos com doses variando de 2 a 8 mg/kg por períodos de 10 dias até 8 semanas relatam atraso no reparo de fratura de fêmur de ratos (SIMON et al., 2002; BERSGENSTOCK et al., 2005; SIMON e O'CONNOR, 2007), enquanto tratamentos com doses variando de 1 a 10 mg/kg por períodos 3 a 8 semanas falharam em observar atraso no reparo de fratura de fêmur e tíbia de ratos e de fusão espinhal de coelhos (LONG et al., 2002; BROWN et al., 2004; MATSUMOTO et al., 2008). Também com este medicamento, Mullis et al. (2006) falharam em mostrar atraso no reparo de tíbia de camundongos.

Importante ressaltar que os relatos de que a indometacina, o ibuprofeno, o ceterolaco, o rofecoxibe e o celecoxibe não foram capazes de interferir negativamente com o reparo de tíbia de camundongos, para os quais se chamou a atenção para uma possível interferência da espécie animal, são provenientes de um único trabalho experimental (MULLIS et al., 2006).

De todo o exposto, tem-se que nenhum dos AINEs utilizados no presente trabalho havia sido analisado anteriormente quanto a uma possível interferência com o reparo ósseo da cavidade de extração dental, em animais ou humanos. No entanto, há evidências de que o **cetorolaco** pode inibir a formação óssea reparacional em outros modelos experimentais, como fratura de fêmur, fusão espinhal e osteotomia de ulna, em ratos e coelhos (HO et al., 1995; 1998; MARTIN et al., 1999; GERSTENFELD et al., 2003; 2007), mas parece não interferir com o reparo de fratura de tíbia de camundongos (MULLIS et al., 2006). Quanto à **nimesulida** e ao **etoricoxibe**, não foram encontrados relatos de uma possível ação em estudos de reparo ósseo, com os quais possam ser feitas comparações.

No tocante às particularidades do presente modelo experimental, embora fundamentalmente comparável ao tecido ósseo do restante do organismo, o osso alveolar possui características que o distinguem, como a existência do ligamento periodontal que funciona como fonte extra de células osteoprogenitoras, essenciais para diferenciação dos osteoblastos responsáveis pela formação do novo osso reparacional (LIN et al., 1994). Adicionalmente, o osso alveolar está capacitado a uma remodelação peculiarmente rápida e contínua, associada à erupção dentária e às exigências funcionais da mastigação (SAFFAR et al., 2000; SODEK e MCKEE, 2000).

O tempo de tratamento dos animais do presente trabalho (2 semanas) foi aparentemente longo em comparação aos períodos mais usuais de tratamento para alívio da dor nas clínicas odontológicas, incluindo os casos de cirurgia oral e maxilofacial, que no geral não excede 2 a 4 dias. Há, no entanto, casos de dores crônicas que requerem o uso de medicação anti-inflamatória e analgésica por tempo prolongado, como nas disfunções de articulação temporomandibular e nas dores crônicas orofaciais. Principalmente para as situações desta natureza têm sido indicados os AINEs seletivos para COX-2, que apresentam eficácia comparável à dos AINEs não-seletivos aliada a maior segurança no tocante aos efeitos adversos gastrointestinais (CICCONETTI et al., 2004). Deve-se considerar também a possibilidade de que alguns pacientes que se submetem a intervenção odontológica estejam fazendo uso prolongado de algum AINE para tratamento de doenças crônicas de natureza inflamatória, como a artrite reumatóide e a osteoartrite e, mais recentemente, como uma possibilidade preventiva e terapêutica para outras doenças em que ocorre aumento da expressão da COX-2, como é o caso da espondilite anquilosante, da gota e de certos tipos de cânceres, notadamente os de origem epitelial.

A análise histométrica confirmou que o percentual de trabéculas ósseas neoformadas no interior da cavidade de extração dental dos ratos tratados com paracetamol foi estatisticamente semelhante ao dos controles.

Desde a década de 1970, o paracetamol tem sido uma das drogas mais utilizadas mundialmente para tratamento da dor e da febre (BERTOLINI et al., 2006) e uma das primeiras escolhas para analgesia na clínica odontológica (POVEDA et al., 2007). Seu efeito analgésico deve-se a um mecanismo central ainda não completamente entendido (ARONOFF et al., 2006), recentemente atribuído à ativação indireta do receptor canabinóide CB₁ (BERTOLINI et al., 2006).

Embora considerado um anti-inflamatório fraco, incapaz de inibir a formação de prostanóides nos sítios inflamatórios (BERTOLINI et al., 2006), há relatos de que ele é eficaz em diminuir o edema após cirurgias orais (GRAHAM e SCOTT, 2005). Estudo recente, desenvolvido com voluntários humanos, mostrou que o paracetamol pode inibir em mais de 80% a atividade da COX-2 periférica, um grau de inibição comparável ao dos AINEs seletivos (HINZ et al., 2008).

Estudos do final da década de 1990 mostraram um segundo pico de COX-2 que ocorre na fase de resolução do processo inflamatório; esta COX-2 tem sensibilidade reduzida aos AINEs, mas é particularmente sensível à inibição pelo paracetamol (SIMMONS et al., 1999). A inibição da COX-2 tardia atrasa a resolução da inflamação, sugerindo que esta enzima tem um efeito pró-inflamatório na fase inicial, mas contribui para a resolução da resposta inflamatória e para o reparo, em fases mais tardias (PARENTE, 2001 para referências). Confirmou-se recentemente que as prostaglandinas produzidas por ativação da COX-2 são importantes mediadoras da resolução do processo inflamatório (RAJAKARIAR et al., 2006).

Considerando todo o exposto, presumiu-se que o paracetamol, inibindo localmente a atividade da COX-2 tardia, poderia atrasar a resolução do processo inflamatório desencadeado pela extração dental e atrasar o reparo ósseo subsequente, uma hipótese que não se confirmou no presente estudo.

A dose de paracetamol utilizada (80 mg/kg/dia) foi compatível com a terapêutica humana e com estudos experimentais acerca de seus efeitos sobre o reparo de tecidos mole e mineralizado. O tratamento de ratos com paracetamol (60 ou 300 mg/kg/dia por 10 dias) não interferiu com o reparo de fratura de fêmur de ratos, conforme resultados de teste mecânico e de análises radiográfica e histológica realizadas após 8 semanas; importante ressaltar que não foi realizada nenhuma avaliação imediatamente após o término do tratamento (BERGENSTOCK et al., 2005). Quando acrescentado em concentração padrão na ração (média de 60 mg/kg/dia por 14 dias) também não exerceu efeito deletério sobre o reparo do tendão patelar de ratos (FERRY et al., 2007).

7- CONCLUSÃO

Os resultados histológicos e histométricos mostraram que **os anti-inflamatórios não-esteroidais utilizados (cetorolaco, nimesulida e etoricoxibe)**, que diferem quanto à capacidade relativa de inibição das enzimas COX-1 e COX-2, **não interferiram com o reparo ósseo da cavidade de extração dental de ratos.**

O paracetamol, um analgésico de ação central com atividade anti-inflamatória fraca, testado em decorrência de evidências recentes de que pode inibir a atividade de uma COX-2 periférica tardia, **também não alterou o reparo ósseo alveolar.**

As doses utilizadas no presente trabalho foram compatíveis com a terapêutica humana e/ou com trabalhos experimentais em ratos. Não foram encontrados relatos na literatura sobre a possível interferência dessas drogas com o reparo ósseo alveolar. O cetorolaco e o paracetamol, mas não a nimesulida e o etoricoxibe, já haviam sido investigados quanto aos possíveis efeitos deletérios sobre o reparo de outros tipos de osso.

Os presentes resultados, obtidos em animais, não devem ser diretamente extrapolados para humanos, nem conduzir a uma inferência sobre o uso de AINEs na clínica odontológica.

Apesar de numerosas evidências experimentais e clínicas de que os diferentes tipos de AINEs podem ter efeitos indesejados na clínica ortopédica, há um número reduzido de estudos voltados especificamente para a área odontológica. Portanto, parecem pertinentes mais investigações nessa área, com variação dos parâmetros experimentais e das ferramentas de avaliação, antes que se descarte a possibilidade de que os AINEs possam ter efeitos indesejados em procedimentos odontológicos que necessitam de formação óssea, principalmente no caso de utilização prolongada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AKMAN, S; GOGUS, A; SENER, N; BILGIC, B; AKSOY, B; SECKIN, F. **Effect of diclofenac sodium on union of tibial fractures in rats.** Adv Ther, v.19, n. 3, p. 119-25, may-june, 2002.
- 2- ALLEN, H L; WASE, A; BEAR, W T. **Indomethacin and aspirin: effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat.** Acta Orthop Scand, v. 51, n. 4, p. 595-600, aug., 1980.
- 3- ALTMAN, R D; LATTA, L L ; KEER, R; RENFREE, K; HORNICEK, F J; BANOVA, K. **Effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on fracture healing: a laboratory study in rats.** J Orthop Trauma, v. 9, n. 5, p. 392-400, 1995
- 4- ARAÚJO, M G e LINDHE, J. **Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog.** J Clin Periodontol, v. 32, p. 212–218, 2005.
- 5- ARDOIN, S P e SUNDY, J S. **Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs.** Curr Opin Rheumatol, 18, n. 3, p. 221-6, 2006.
- 6- ARNOFF, D M; OATES, J A; BOUTAUD, O. **New insights into the mechanism of action of acetaminophen: Its clinical pharmacologic characteristics reflect its inhibition of the two prostaglandin H2 synthases.** Clinical Pharmacology and Therapeutics, v. 79, n. 1, p. 9-19, 2006.
- 7- AZOUBEL, M C F; MENEZES, A M A; BEZERRA, D; ORIÁ, R B; RIBEIRO, R A; BRITO, G A C. **Comparison of etoricoxib and indomethacin for the treatment of experimental periodontitis in rats.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 40, p. 117-125, 2007.
- 8- BAILEY, B M; ZAKI, G; ROTMAN, H; WOODWARDS, R T. **A double-blind comparative study of soluble aspirin and diclofenac dispersible in the control of postextraction pain after removal of impacted third molars.** Int J Oral Maxillofac Surg, v. 22, n. 4, p. 238-41, aug., 1993.
- 9- BARATIERI, A e DELI, R. **The effect on bone repair of aspirin cones placed in extraction sockets in dogs: a histopathologic study.** J Oral Pathol, v. 8, n. 4, p. 198-206, aug., 1979.
- 10- BARTHEL, T; BAUMANN, B; NÖTH, U; EULERT, J. **Prophylaxis of heterotopic ossification after total hip arthroplasty.** Acta Orthop Scand, v. 73, n. 6, p. 611–614, 2002.
- 11- BATTISTI, N. **The evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of flurbiprofen mouthwash and 100-mg tablets in oral medicine.** Minerva Stomatol, v. 43, n. 4, p. 141-4, apr., 1994.
- 12- BERGENSTOCK, M; MIN, W; SIMON, A M; SABATINO, C; O`CONNOR, J P. **A comparison between the effects of acetaminophen and celecoxib on bone fracture healing in rats.** J Orthop Trauma, v. 19, n. 10, p. 717-23, dec., 2005.

- 13- BERTOLINI, A; FERRARI, A; FERRARI, A; OTTANI, A; GUERZONI, S; TACCHI, R; LEONE, S. **Paracetamol: New Vistas of an Old Drug**. Drug Reviews, v. 12, n. 3–4, p. 250–275, 2006.
- 14- BILEZIKIAN, J P; RAISZ, L G; RODAN, G A. **Principles of Bone Biology**. San Diego, California : Academic Press. Inc., 1996.
- 15- BO, J; SUDMANN, E; MARTON, P F. **Effect of indomethacin on fracture healing in rats**. Acta Orthop Scand, v. 47, n. 6, p. 588-99, dec., 1976.
- 16- BROWN, K M; SAUNDERS, M M; KIRSCH, T; DONAHUE, H J; REIDROWN, S. **Effect of cOX-2 specific inhibition on fracture-healing in the rat femur**. J Bone Joint Surg Am, v. 86, p. 116-123, 2004.
- 17- BURD, T A; HUGHES, M S; ANGLIN, J O. **Heterotopic ossification prophylaxis with indomethacin increases the risk of long-bone nonunion**. The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 85-B, p. 700-5, 2003.
- 18- CARVALHO, W; CARVALHO, R D S; RIOS-SANTOS, F. **Specific cyclooxygenase-2 inhibitor analgesics: therapeutic advances**. Rev Bras Anesthesiol, v. 54, n. 3, p. 448 – 464, 2004.
- 19- CHANDRASEKHARAN, N V e SIMMONS, D L. **The cyclooxygenases**. Genome Biology, v. 5, n. 9, p. 1-7, 2004.
- 20- CICCONETTI, A; BARTOLI, A; RIPARI, F; RIPARI, A. **Cox-2 selective inhibitors: A literature review of analgesic efficacy and safety in oral-maxillofacial surgery**. Oral and Maxillofacial Surgery, v. 97, n. 2, p. 139-146, feb., 2004.
- 21- DEGUCHI, M; RAPOFF, A J; ZDEBLICK, T A. **Posterolateral fusion for isthmic spondylolisthesis in adults: analysis of fusion rate and clinical results**. J Spinal Disord. v. 11, n. 6, p. 459-64, dec., 1998.
- 22- DEVLIN, H. **Early bone healing events following rat molar tooth extraction**. Cells Tissues Organs, v. 167, n. 1, p. 33-7, 2000.
- 23- DEVLIN, H e SLOAN, P. **Early bone healing events in the human extraction socket**. J. Oral Maxillofac Surg, v. 31, p. 641–645, 2002.
- 24- DIMAR, J R; ANTE, W A; ZHANQ, Y P; GLASSMAN, S D. **The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on posterior spinal fusions in the rat**. Spine, v. 21, n. 16, p. 1870-6, aug., 1996.

- 25- DIMEN, S; NORDSLETTEN, L; ENGBRETSSEN, L; STEEN, H; MADSEN, J E. **Negative effect of parecoxib on bone mineral during fracture healing in rats.** Acta Orthop, v. 79, n.3, p. 438-444, June, 2008.
- 26- ENDO, K; SAIRYO, K; KOMATSUBARA, S; SASA, T; EGAWA, H; OGAWA, T; YONEKURA, D; MURAKAMI, R; YASUI, N. **Cyclooxygenase-2 inhibitor delays fracture healing in rats.** Acta Orthop, v. 76, n. 4, p. 470-4, aug., 2005.
- 27- ELSUBEIHI, E S e HEERSCHKE, J N M. **Quantitative assessment of post-extraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats.** Arch Oral Biol, v. 49, n. 5, p. 401-12, may, 2004.
- 28- FRANSEN, M; ANDERSEN, C; DOUGLAS, J; MACMAHON, S; NEAL, B; NORTON, R; WOODWARD, M. **Safety and efficacy of routine postoperative ibuprofen for pain and disability related to ectopic bone formation after hip replacement surgery (HIPAID): randomised controlled trial.** BMJ, v. 333, n. 7567, p. 519-524, sep., 2006.
- 29- FERRY, S T; DAHNERS, L E; AFSHARI, H M; WEINHOLD, P S. **The Effects of Common Anti-Inflammatory Drugs on the Healing Rat Patellar Tendon.** The American Journal of Sports Medicine, v. 37, n. 8, p. 1326-1333, 2007.
- 30- GAJRAJ, N M. **The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on bone healing,** Regional Anesthesia and Pain Medicine, v. 28, n. 5, p. 456–465 Sep-Oct, 2003.
- 31- GAMBERO, A; BECKER, T L; ZAGO, A S; OLIVEIRA, A F; PEDRAZZOLI JR., J. **Comparative study of anti-inflammatory and ulcerogenic activities of different cyclo-oxygenase inhibitors.** Inflammopharmacology, v.1 3, n. 5–6, p. 441–454 2005.
- 32- GERSTENFELD, L C; EINHORN, T A. **COX inhibitors and their effects on bone healing.** Expert Opin Drug Saf. v. 3 n. 2, p. 131-6, 2004.
- 33- GERSTENFELD, L C; THIEDE, M; SEIBERT, K; MIELKE, C; PHIPPARD, D; SVAGR, B; CULLINANE, D; EINHORN, T A. **Differential inhibition of fracture healing by non-selective and cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs.** Journal of Orthopaedic Research, v. 21, p. 670–675, 2003.
- 34- GERSTENFELD, L C; AL-GHAWAS, M; ALKHIARY, Y M; CULLINANE, D M; KRALL, E A; FITCH, J L; WEBB, E G; THIEDE, M A; EINHORN, T A. **Selective and nonselective cyclooxygenase-2 inhibitors and experimental fracture-healing reversibility of effects after short-term treatment.** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 89, p. 114-125, 2007.
- 35- GIANNOUDIS, P V; MACDONALD, D A; MATTHEWS, S J; SMITH, R M; FURLONG, A J; BOER, P. **Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs.** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 82-B, n. 5, p. 655-58, july, 2000.

- 36- GLASSMAN, S D; ROSE, S M; DIMAR, J R; PUNO, R M; CAMPBELL, M J; JOHNSON J R. **The effect of postoperative nonsteroidal anti-inflammatory drug administration on spinal fusion.** Spine, v. 23, n. 7p. 834-8, apr., 1998.
- 37- GOODMAN, S B; MA, T; TRINDADE, M; IKENOUE, T; MATSUURA, I; WONG, N; FOX, N; GENOVESE, M; REGULA, D; SMITH, R L. **Cox-2 selective NSAID decreases bone ingrowth in vivo.** Journal of Orthopaedic Research, v. 20, p. 1161-1169, 2002.
- 38- GOODMAN, SB; MA, T; MITSUNAGA, L; MIYANISHI, K; GENOVESE, M C; SMITH, R L. **Temporal effects of a COX-2-selective NSAID on bone ingrowth.** J Biomed Mater Res A. v. 72, n. 3, p. 279-87, mar., 2005.
- 39- GRAHAM, G G e SCOTT, K F. **Mechanism of action of paracetamol.** Am J Ther, v. 12, n. 1, p. 46-55. jan-fev, 2005.
- 40- GRANADOS-SOTO, V; LOPEZ-MUNÖS, F J; HONG, E; FLORES-MURRIETA, F J. **Relationship between pharmacokinetics and the analgesic effect of ketorolac in the rats.** The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, v. 272, n. 1, p. 352-356, 1995.
- 41- GROHS, J G; SCHMIDT, M; WANIVENHAUS, A. **Selective COX-2 inhibitor versus indomethacin for the prevention of heterotopic ossification after hip Replacement.** Acta Orthopaedica, v. 78, n. 1, p. 95–98, 2007.
- 42- GUGLIELMOTTI, M B e CABRINI, R L. **Alveolar wound healing and ridge remodeling after tooth extraction in the rat: A histologic, radiographic, and histometric study.** J Oral Maxillofac Surg, v. 43, p. 359-364, 1985.
- 43- HARDER, A T; AN, Y H. **The mechanisms of the inhibitory effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on bone healing: A Concise Review.** Journal of Clinical Pharmacology, v. 43, p. 807-815, 2003.
- 44- HINZ, B; CHEREMINA, O; BRUNE, K. **Acetaminophen (paracetamol) is a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in man,** The FASEB Journal, v. 22, p. 383-390, feb., 2008.
- 45- HO, M L; CHANQ, J K; WANG, G J. **Antiinflammatory drug effects on bone repair and remodeling in rabbits.** Clin Orthop Relat Res, n. 313, p. 270-8, apr., 1995.
- 46- HO, M L; CHANQ, J K; WANG, G J. **Effects of ketorolac on bone repair: A radiographic study in modeled demineralized bone matrix grafted rabbits.** Pharmacology, v. 57, n. 3, p. 148-59, sept., 1998.
- 47- HOIKKA, V; LINDHOLM, T S; ESKOLA, A. **Flurbiprofen inhibits heterotopic bone formation in total hip arthroplasty.** Arch Orthop Trauma Surg, v. 109, n. 4, p. 224-6, 1990.

- 48- HOLZHAUSEN, M; SPOLIDORIO, D M P; MUSCARÁ, M N; HEBLING, J; SPOLIDORIO, L C. **Protective effects of etoricoxib, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2, in experimental periodontitis in rats.** J Periodont Res, v. 40, p.208-211, 2005.
- 49- HUO, M H; TRIANO, N W; PELKER, R R; GUNDBERG, C M; FRIEDLAENDER, G E. **The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats.** J Orthop Res, v. 9, n. 3, p. 383-90, may, 1991.
- 50- HUUSKO, P J; NIEMINEN, L H; NIEMINEN, L S. **The effect of indomethacin on tooth extraction wound healing in rats.** Experientia, v. 31, n. 9, p. 1056-8, sep., 1975.
- 51- JAIN, N K; PATIL, C S; KULKAMI, S K; SINGH, A. **Modulatory role of cyclooxygenase inhibitors in aging- and scopolamine or lipopolysaccharide-induced cognitive dysfunction in mice.** Behavioural Brain Research, v.133, p. 369-376, 2002.
- 52- KARUNAKAR, M A; SEN, A; BOSSE, M J; SIMS, S H; GOULET, J A; KELLAM, J F. **Indometacin as prophylaxis for heterotopic ossification after the operative treatment of fractures of the acetabulum.** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 88-B, n. 12, p. 1613-1617, dec.,2006.
- 53- KELLER, J; BÜNGER, C; ANDREASSEN, T T; BAK, B; LUCHT, U. **Bone repair inhibited by indomethacin. Effects on bone metabolism and strength of rabbit osteotomies.** Acta Orthop Scand, v. 58, n. 4, p. 379-83, aug., 1987.
- 54- KJAERGAARD-ANDERSEN, P; NAFEI, A; TEICHERT, G; KRISTENSEN, O; SCHIMIDT, S A; KELLER, J; LUCHT, U. **Indomethacin for prevention of heterotopic ossification. A randomized controlled study in 41 hip arthroplasties.** Acta Orthop Scand, v. 64, n. 6, p. 639-42, dec., 1993.
- 55- KHAN, P K; AMOD, K; HAQUE, M; NATH, A. **Genotoxicity of nimesulide in murine bone marrow cells.** In Vivo, v. 17, n. 5 p. 439-40, 2003.
- 56- KING, J N; DAWSON, J; ESSER, R E; FUJIMOTO, R; KIMBLE, E F; MANIARA, W; MARSHALL, P J; O'BYRNE, L; QUADROS, E; TOUTAIN, P L; LEES, P. **Preclinical pharmacology of robenacoxib: a novel selective inhibitor of cyclooxygenase-2.** J. Vet. Pharmacol. Therap, v. 32, p. 1-17, 2009.
- 57- KRISCHAK, G D; AUGAT, P; SORG, T; BLAKYTN, R; KINZL, L; CLAES, L; BECK, A. **Effects of diclofenac on periosteal callus maturation in osteotomy healing in an animal model.** Arch Orthop Trauma Surg, v.127, n. 1, p. 3-9, jan. 2007.
- 58- LAMANO-CARVALHO, T L; BRENTAGANI, L G; BOMBONATO, K F. **Histometric Analysis of Rat Alveolar Wound Healing.** Braz Dent J, v. 8, n. 1, p. 9-12, 1997.

- 59- LIN, W L; MCCULLOCH, C A; CHO, M I. **Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat.** Anat Rec, v. 240, n. 4, p. 492-506, dec., 1994.
- 60- LÖKKEN, P; OLSEN, I; NORMAN-PEDERSEN, K. **Bilateral surgical removal of impacted lower third molar teeth as a model for drug evaluation: a test with ibuprofen.** Eur J Clin Pharmacol, v. 8, n. 3-4, p. 209-16, apr., 1975.
- 61- LONG, J; LEWIS, S; KUKLO, T; ZHU, Y; RIEWONG, D. **The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on spinal fusion.** J Bone Joint Surg Am, v. 84:, p. 1763-1768, 2002.
- 62- MARTIN, G J Jr; BODEN, S D; TITUS, L. **Recombinant human bone Morphogenetic protein-2 overcomes the inhibitory effect of ketorolac, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), on posterolateral lumbar intertransverse process spine fusion.** Spine, v. 24, n. 21, p. 2188-93, nov., 1999.
- 63- MATSUMOTO, M A; OLIVEIRA, A; RIBEIRO JR, P D; NARY FILHO, H; RIBEIRO, D A. **Short-term administration of non-selective and selective cox-2 nsoids do not interfere with bone repair in rats.** J Mol Histol., v. 39, n. 4 p. 381-7, aug., 2008.
- 64- MELNIKOVA, I. **Future of cox-2 inhibitors.** Nat Rev Drug Discov, v. 4, n. 6, P. 453-4, june, 2005.
- 65- MIYAUCHIA, M; HIRAOKAA, M; OKAA, H; SATOA, S; KUDOA, Y; OGAWAB, I; NOGUICHIC, K; ISHIKAWAC, I; TAKATAA, T. **Immuno-localization of cox-1 and Cox-2 in the rat molar periodontal tissue after topical application of lipopolysaccharide.** Archives of Oral Biology, v.49, p.739—746, 2004.
- 66- MOED, B R; RESNICK, R B; FAKHOURI, A J; NALLAMOTHU, B; WAGNER, R A. **Effect of two nonsteroidal anti-inflammatory drugs on heterotopic bone formation in a rabbit model.** The Journal of Arthroplasty, v. 9, n. 1, 1994.
- 67- MOORE, K. D; GOSS, K; ANGLIN, J O. **Indomethacin versus radiation therapy for prophylaxis against heterotopic ossification in acetabular fractures.** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 80-B, n. 2, mar., 1998.
- 68- MULLIS, B H; COPLAND, S T; WEINHOLD, P S; MICLAU, T; LESTER, G E; BOS, G D. **Effect of COX-2 inhibitors and non-steroidal anti-inflammatory drugs on a mouse fracture model.** Injured, v37, p. 827—837, 2006.
- 69- MURNAGHAN, M; LI, G; MARSH, D R. **Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced fracture nonunion: An inhibition of angiogenesis?** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 88-A, n. 3, p. 140-147, 2006.
- 70 OKADA, Y; PILBEAN, C; RAISZ, L; TANAKA, Y. **Role of cicloxygenase-2 in bone resorption.** J. Uoeh, v. 25, n.2, p. 185-95, june, 2003.

- 71- PANARA, M R; PADOVANO, R; SCIULLI, M G; SANTINI, G; RENDA, G; ROTONDO, M T; PACE, A; PATRONO, C; PATRIGNANI, P. **Effects of nimesulide on constitutive and inducible prostanoid biosynthesis in human beings.** Clinical Pharmacology and Therapeutics, v. 63, n. 6, p. 672-681, 1998.
- 72- PARENTE, L. **Pros and cons of selective inhibition of cyclooxygenase-2 versus dual lipoxigenase/cyclooxygenase inhibition: is two better than one?** J Rheumatol, v. 28, n. 11 p. 2375-82, nov., 2001.
- 73- PARENTE, L e PERRETTI, M. **Advances in the pathophysiology of constitutive and inducible cyclooxygenases: two enzymes in the spotlight.** Biochemical Pharmacology, v. 65, p. 153-159, 2003.
- 74- PATRIGNANI, P; CAPONE, M L; TACONELLI, S. **Clinical pharmacology of etoricoxib: a novel selective COX2 Inhibitor.** Expert Opin Pharmacoter, v. 4, n. 2, p. 265-84, feb., 2003
- 75- PHAN, T C A; XU, J; ZHENG, M H. **Interaction between osteoblast and osteoclast: impact in bone disease.** Histol Histopathol , v.19, p.1325-1344, 2004.
- 76- POVEDA RODA, R; BAGAN, JV; JIMENEZ SORIANO, Y; GALLUD ROMERO, L. **Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dental practice.** A review. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, v. 12, n. 1, p. E10-8, 2007.
- 77- PRITCHETT, J W. **Ketorolac prophylaxis against heterotopic ossification after hip replacement.** Clin Orthop Relat Res, v. 314, p. 162-5, may, 1995.
- 78- RADİ, Z A; KHAN, N K. **Effects of cyclooxygenase inhibition on bone, tendon and ligament healing.** Inflammation Research, v. 54, p. 358-366, 2005.
- 79- RAISZ, L G. **Physiology and pathophysiology of bone remodeling.** Clinical Chemistry, v. 45, n.8, p. 353-1358, 1999.
- 80- RAISZ, L G. **Potential impact of selective cyclooxygenase-2 inhibitors on bone metabolism in health and disease.** The American Journal of Medicine, v. 110, n. 3A, fev. 2001.
- 81- RAJAKARIAR, R; YAQOOB, M M ; GILROY, D W. **COX-2 in Inflammation and Resolution.** Molecular Interventions, V. 6, n. 4, aug. 2006.
- 82- REUBEN, S S; ABLETT, D; KAYE, R. **High dose nonsteroidal anti-inflammatory drugs compromise spinal fusion.** Can J Anesth, v. 52, n. 5, p. 506-512, 2005.

- 83- RINDEAU, D; PERCIVAL, M D; BRIDEAU, C; CHARLESON, S; DUBE, D; ETHIER, D; FALGUEYRET, J P; FRIESEN, R W; GORDON,R; GREIG, G; GUAY, J; MANCINI, J; OUELLET, M; WONG, E; XU, L; BOYCE,S; VISCO, D; GIRARD, Y; PRASIT, P; ZAMBONI, R; RODGER, I W; GRESSER, M; FORD-HUTCHINSON, A W; YOUNG, R N; CHAN, C C. **Etoricoxib (MK-0663): Preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2.** The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 296, n. 2, p.558-566. 2001.
- 84- SAFFAR, J L; LASFARGUE, J J; C HERRUAU, M. **Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable.** Periodontology, v. 13, p. 76-90, 2000
- 85- SALVI, G E e LANG, N P. **Clinical pharmacology of etoricoxib: a novel selective Cox-2 inhibitor.** Expert Opin, Pharmacother, v. 4, n. 2, p. 265-84, feb., 2005.
- 86- SASSIOTO, M C P; INOUE, C M; AYDOS, R D; FIGUEIREDO, A S. **Bone repair in rats treated with sodic diclofenac and calcitonin.** Acta Cir. Brás, v. 21, n.4, P. 40-4, 2006.
- 87- SAUDAN, M; SAUDAN, P; PERNEGER,T; RIAND, N; KELLER, A; HOFFMEYER, P. **Celecoxib versus ibuprofen in the prevention of heterotopic ossification following total hip replacement.** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 89-B, n. 2, Feb., 2007.
- 88- SCHUBERT, J. **Action mechanism of locally administered acetylsalicylic acid in wound healing disorders following tooth extraction.** Dtsch Stomatol, v. 23, n. 9, p. 692-6, sep., 1973.
- 89- SEINDENBERG, A B e AN, Y H. **Is there an inhibitory effect of COX-2 inhibitors on bone healing?** Pharmacological Research v. 50, p.1 51–156, 2004.
- 90- SIMMONS, D L; BOTTING, R M; ROBERTSON, P M; MADSEN, M L; VANE, J R. **Induction of an acetaminophen-sensitive cyclooxygenase with reduced sensitivity to nonsteroid antiinflammatory drugs.** Pharmacology, v. 96, p 3275–3280, Mar., 1999.
- 91- SIMMONS, D L; WAGNER, D; WESTOVER, K. **Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, acetaminophen, cyclooxygenase 2, and fever.** Clinical Infectious Diseases, v. 31, n. 5 p. 211–8, 2000.
- 92- SIMON, A M; MANIGRASSO, M B; O'CONNOR, P. **Cyclooxygenase 2 function is essential for bone fracture healing.** Journal of Bone and Mineral Research v. 17, n. 6, 2002.
- 93- SIMON, A M e O'CONNOR, J P. **Dose and Time-Dependent Effects of Cyclooxygenase-2 Inhibition on Fracture-Healing.** The Journal of Bone and Joint Surgery, v. 89-A, n. 3, p. 500-11, mar., 2007.

- 94- SODEK, J e MCKEE, M D. **Molecular and cellular biology of alveolar bone**, Periodontol, v. 24, p. 99-126, oct., 2000.
- 95- TACCONELLI, S; CAPONE, M L; SCIULLI, M G; RICCIOTTI, E; PATRIGNANI, P. **The biochemical selectivity of novel COX-2 inhibitors in whole blood assays of COX-isozyme activity**. Curr Med Res Opin, v. 18, n. 8, p. 503-11, 2002.
- 96- VAN der HEIDE, H J L; RIJNBERG, W J; SORGE, A; KAMPEN, A; SCHREURS, B W. **Similar effects of rofecoxib and indomethacin on the incidence of heterotopic ossification after hip arthroplasty**. Acta Orthopaedica, v. 78, n. 1, p. 90–94, 2007 a.
- 97- VAN der HEIDE, H J L; KOOREVAAR, R C T; LEMMENS, J A M; KAMPEN, A; SCHREURS, B W. **Rofecoxib inhibits heterotopic ossification after total hip Arthroplasty**. Arch Orthop Trauma Surg, v. 127, p. 557–561, 2007 b.
- 98- XIE, W; CHIPMAN, J G; ROBERTSON, D L; ERIKSON, R L; SIMMONS, D L. **Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing**. Biochemistry, v. 88, p. 2692-2696, Apr., 1991.
- 99- YUGOSHI, L I; SALA, M A; BRENTGANI, L G; LAMANO-CARVALHO, T L. **Histometric study of socket healing after tooth extraction in rats treated with diclofenac**. Braz. Dent. J., v.13, n.2, p. 92-6, 2002.
- 100- WARNER, T D; GIULIANO, F; VOINOVIC, I; BUKASA, A; MITCHELL, J A; VANE, J R. **Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full in vitro analysis**. Pharmacology, v. 96, p. 7563–7568, June, 1999.
- 101- WALLACE, J L; MCKNIGHT, W; REUTER, B K; VERGNOLLE, N. **NSAID-Induced Gastric Damage in Rats: Requirement for Inhibition of Both Cyclooxygenase 1 and 2**. Gastroenterology, v. 119, p. 706–714, 2000.
- 102- ZHANG, X; SCHWARZ, E M; YOUNG, D A; PUZAS, J E; ROSIER, R N; O'KEEFE, R J. **Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair**. The Journal of Clinical Investigation v. 109, n. 11, p. 1405-1415, jun., 2002.

APÊNDICE

Tabela 1. Volume relativo de tecido ósseo reparacional, estimado pelo percentual de pontos contados sobre trabéculas ósseas neoformadas.

Grupo (n)	% de pontos sobre trabéculas ósseas	quantidade de secções analisadas	total de pontos contados	Testes Estatísticos
Controle (7)	28,0	9	948	<p>Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov</p> <p>Controle: KS = 0,19 Cetorolaco: KS = 0,18 Nimesulida: KS = 0,26 Etoricoxibe: KS = 0,19 Paracetamol: KS = 0,15</p> <p>P > 0,10 para todos os grupos</p> <p>Diferença com a distribuição normal: não significativa</p> <p>Análise de Variância (ANOVA)</p> <p>g.l. = 4 F = 1,52 $\chi^2 = 0,13$</p> <p>as 5 amostras não diferem significativamente entre si (P = 0,2140)</p>
	36,7	6	762	
	40,8	15	2044	
	37,2	8	1157	
	22,6	6	569	
	26,0	12	1588	
	33,0	8	1096	
Média ± EPM	32,0 ± 2,5			
Cetorolaco (9)	37,1	11	1622	
	34,7	7	999	
	29,4	8	1144	
	35,5	10	1428	
	35,6	8	1143	
	31,4	10	1386	
	47,3	7	1009	
	31,4	9	1260	
	39,9	10	1405	
Média ± EPM	35,8 ± 1,8			
Nimesulida (9)	42,8	10	1349	
	30,2	10	1377	
	42,0	10	1356	
	30,6	6	677	
	41,0	7	1060	
	32,6	11	1532	
	31,7	6	772	
	32,9	8	1080	
	36,3	4	562	
Média ± EPM	35,6 ± 1,7			
Etoricoxibe (10)	41,5	10	1341	
	29,9	11	1352	
	25,4	6	642	
	37,6	9	1132	
	35,3	12	1441	
	34,6	7	881	
	33,9	10	1317	
	33,6	6	765	
	29,2	9	1261	
	35,8	11	1501	
Média ± EPM	33,7 ± 1,4			
Paracetamol (11)	38,6	10	1385	
	33,4	10	1470	
	40,1	10	1324	
	37,6	13	1638	
	38,3	8	1172	
	34,6	9	1320	
	37,8	7	736	
	33,3	8	945	
	32,7	8	1077	
	44,8	6	832	
	40,9	11	1555	
Média ± EPM	37,5 ± 1,1			
Média ± EPM (n = 46)		8,6 ± 0,3	1182,9 ± 47,6	

ANEXO

Efeito dos **AINEs convencionais** sobre a formação/reparação óssea experimental

AINEs	Dose / Tempo	Modelo Experimental	Resultado	Referência
Indometacina	1 mg/kg/dia/2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, histologia	Atraso no reparo, reversível	Altman e cols. 1995
	1 mg/kg/dia/2 a 8 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, exames radiográfico e histológico	Atraso no reparo	Simon e cols. 2002
	1 mg/kg/dia/4 a 8 semanas	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, exame radiográfico	Atraso no reparo em 4 semanas	Brown e cols. 2004
	2 mg/kg/dia/ 24 dias (v.o.)	Fratura de fêmur em ratos – teste mecânico, exames radiográfico e histológico	Atraso no reparo	Bo e cols. 1976
	3 mg/kg/dia/12 semanas (subcutâneo)	Fusão espinhal em ratos – exame manual	Menor taxa de fusão	Dimar e cols. 1996
	1-4 mg/kg/dia/ 3 semanas	Fratura de rádio e ulna em ratos	Atraso no reparo (todas as doses)	Allen e cols. 1980
	10 mg/kg/dia/ 2 ou 6 semanas	Osteotomia em coelhos - teste mecânico, conteúdo mineral	Atraso no reparo	Keller e cols. 1987
	10 mg/kg/dia/10 semanas (intramuscular)	Ossificação heterotópica em coelhos - exame radiográfico	Eficaz na prevenção da ossificação heterotópica	Moed e cols. 1994
	10 mg/kg/dia/8 semanas (v.o.)	Fusão espinhal em coelhos – palpação, exames radiográfico e histológico	Menor taxa de fusão	Long e cols. 2002
	2 mg/kg/dia/ 2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de tíbia em camundongo – análises mecânica, bioquímica, molecular, histológica	Não interferiu	Mullis e cols. 2006
Aspirina	100-300 mg/kg/dia/3 semanas	Fratura de rádio e ulna em ratos jovens (45 dias) – exames radiográfico e histológico	Atraso no reparo (dose maior)	Allen e cols. 1980

Efeito dos **AINEs convencionais** sobre a formação/reparação óssea experimental (continuação)

AINEs	Dose / Tempo	Modelo Experimental	Resultado	Referência
Diclofenaco	5 mg/rato (dose única intramuscular)	Fratura de fêmur de rato – análise histológica após 1-3 semanas	Atraso no reparo	Sassioto e cols. 2006
	5 mg/kg/dia/até 3 semanas	Fratura em tibia de rato – análises radiográfica e histológica	Atraso no reparo	Krischak e cols. 2007
	1 e 2 mg/por rato/10 dias (intramuscular)	Fratura tibia de rato – exames clínico, radiográfico e histológico realizado após 2-6 semanas	Não interferiu	Akman e cols. 2002
Ibuprofeno	30 mg/kg/dia/2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur em rato – teste mecânico, histologia	Atraso no reparo, irreversível	Altman e cols. 1995
	30 mg/kg/dia (vo)/12 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur em rato – teste mecânico, histologia	Não interferiu	Huo e cols. 1991
	30 mg/kg/dia/ 2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de tibia em camundongo – análises mecânica, bioquímica, molecular, histológica	Não interferiu	Mullis e cols. 2006
Naproxeno	110 mg/kg/dia/4 semanas (na água do bebedouro)	Câmara implantada em tibia de coelho – análise histológica do crescimento ósseo	Diminuição do número de osteoclastos e do crescimento ósseo	Goodman e cols. 2002
Cetoprofeno	2 mg/kg, 12/12 h por 5 dias + 1x por dia por 3 dias (subcutâneo)	Fusão espinhal em coelhos – palpação, exames radiográfico e histológico após 8 semanas	Não interferiu	Urrutia e cols. 2007
	1 mg/kg/dia 1 h antes + 12/12 h por até 3 semanas	Fratura de tibia de rato – análises histológica, histométrica e imunohistoquímica	Não interferiu	Matsumoto e cols. 2008
Etodolaco	20 mg/kg/dia/3 semanas	Fratura de fêmur de rato – análise radiográfica, teste mecânico	Atraso no reparo	Endo e cols. 2005

Efeito dos **AINEs convencionais** sobre a formação/reparação óssea experimental (continuação)

AINEs	Dose / Tempo	Modelo Experimental	Resultado	Referência
Cetorolaco	Bomba mini-osmótica subcutânea por 6 semanas	Fusão espinhal coelhos	Menor taxa de fusão	Martin e cols. 1999
	2 e 4 mg/kg/dia/or 6 semanas	Osteotomia ulna de coelho + implante de matriz óssea – teste mecânico, análise radiográfica	Atraso no reparo apenas com a dose maior	Ho e cols.. 1995, 1998
	4 mg/kg/dia/até 6 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, histologia, mRNA COX-1 e 2	Atraso no reparo	Gerstenfeld e cols. 2003
	4 mg/kg/dia/até 3 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, análises histológica e bioquímica	Atraso no reparo, reversível	Gerstenfeld e cols. 2007
	2 mg/kg/dia/2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de tíbia em camundongo – análises mecânica, bioquímica, molecular, histológica	Não interferiu	Mullis e cols. 2006

Efeito dos **AINEs seletivos para COX-2** sobre a formação/reparo ósseo **experimental**

AINEs	Dose / Tempo	Modelo Experimental	Resultado	Referência
Rofecoxibe	3 mg/kg/dia/2 a 8 semanas (v.o.)	Fratura fêmur de rato – teste mecânico, exames radiográfico e histológico	Interrupção do reparo	Simon e cols. 2002
	5 mg/kg/dia/até 32 dias	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, exames histológico e radiográfico	Atraso no reparo	Murnaghan e cols. 2006
	12,5 mg/kg/dia/4 semanas (v.o.)	Câmara implantada em tibia de coelho – análise histológica do crescimento ósseo	Diminuição área de osteoblastos e do crescimento ósseo	Goodman e cols. 2002
	12,5 mg/kg/dia/2 ou 6 semanas (v.o.)	Câmara implantada em tibia de coelho – análise histológica do crescimento ósseo	Diminuição do crescimento ósseo apenas no grupo de 6 semanas	Goodman e cols. 2005
	1 e 5 mg/kg/dia/2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de tibia em camundongo – análises mecânica, bioquímica, molecular, histológica	Não interferiu	Mullis e cols. 2006
Valdecoxibe	5 mg/kg/dia/até 3 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, análises histológica e bioquímica	Atraso no reparo, reversível	Gerstenfeld e cols. 2007
Parecoxibe	0,3 e 1,5 mg/kg/dia/até 6 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, histologia, mRNA COX-1 e 2	Pequeno atraso no reparo	Gerstenfeld e cols. 2003
	0,5 mg/kg/dia/1 semana (intraperitoneal)	Fratura de tibia de rato – teste mecânico após 2, 3 e 6 semanas	Atraso no reparo no período de 2 semanas	Dimen e cols. 2008

Efeito dos **AINEs seletivos para COX-2** sobre a formação/reparação óssea experimental (continuação)

AINEs	Dose / Tempo	Modelo Experimental	Resultado	Referência
celecoxibe	2 e 4 mg/kg/dia/15 dias 8 mg/kg/dia/4 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de ratas* – testes mecânico e radiográfico após 8 semanas	Atraso no reparo	Simon e O'Connor 2007
	4 mg/kg/dia/2 a 8 semanas (v.o.)	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, exames radiográfico e histológico	Interrupção do reparo	Simon e cols. 2002
	3 e 6 mg/kg/10 dias (v.o.)	Fratura fêmur ratas* – exames radiográfico e histológico, testes mecânicos	Atraso no reparo	Bersgenstock e cols. 2005
	1 mg/kg/dia 1 h antes + 12/12 h por até 3 semanas	Fratura de tíbia de rato – análises histológica, histométrica e imunohistoquímica	Não interferiu	Matsumoto e cols. 2008
	3 mg/kg/dia/4 a 12 semanas	Fratura de fêmur de rato – teste mecânico, exame radiográfico	Pareceu não interferir	Brown e cols. 2004
	10 mg/kg/dia/8 semanas (v.o.)	Fusão espinhal em coelhos – palpação, Rx, histologia	Não alterou taxa de fusão	Long e cols. 2002
	10 e 50 mg/kg/dia/ 2 a 12 semanas (v.o.)	Fratura de tíbia em camundongo – análises mecânica, bioquímica, molecular, histológica	Não interferiu	Mullis e cols. 2006

* diferença entre gêneros: a meia vida do celecoxibe em ratas é de 14 h e em ratos é de 4 h (Paulson e cols. 2000, Simon e O'Connor 2007)