



**CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS**

**ROQUE SOARES MARTINS NETO**

**INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA NO PROCESSO DE CI-  
CATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS**

**FORTALEZA**

**2021**

ROQUE SOARES MARTINS NETO

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA NO PROCESSO DE CICA-  
TRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS

Dissertação submetida ao programa de Mestrado em Ciências Odontológicas do Centro Universitário Christus, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Linard Avelar.  
Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Centro Universitário Christus - Unichristus  
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do  
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M379i Martins Neto, Roque Soares.  
Influência do tratamento com pioglitazona no processo de cicatrização de úlceras orais em ratos / Roque Soares Martins Neto. - 2021.  
27 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus - Unichristus, Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Rafael Linard Avelar.  
Coorientação: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva.  
Área de concentração: Ciências Odontológicas.

1. PPAR gama. 2. Cicatrização. 3. Úlceras Oraís. I. Título.

CDD 617.6

ROQUE SOARES MARTINS NETO

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA NO PROCESSO DE CICA-  
TRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS


Dissertação submetida ao programa de Mes-  
trado em Ciências Odontológicas do Centro  
Universitário Christus, como requisito parcial  
para obtenção de título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Linard Avelar

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de  
Barros Silva

Aprovado em: 30 / 09 / 2021

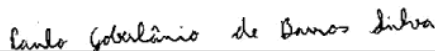
**BANCA EXAMINADORA**



Rafael Linard Avelar  
Cirurgia e Traumatologia  
BUCOMAXILOFACIAL  
CRO/CE 4944

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Rafael Linard Avelar  
Orientador



---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Paulo Goberlânio Barros Silva  
Membro da Banca



---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Sormani Bento Fernandes de Queiroz  
Membro da Banca

FORTALEZA

2021

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Úlceras Orais.....</b>	<b>7</b>
<i>1.1.2 Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma .....</i>	<i>8</i>
<b>1.2 Pioglitazona .....</b>	<b>9</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>10</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
<b>4.1 Abordagem ética, cálculo do tamanho da amostra e grupos experimentais.....</b>	<b>12</b>
<b>4.2 Úlcera oral, parâmetros clínicos e eutanásia.....</b>	<b>13</b>
<b>4.3 Processamento e avaliação histológica.....</b>	<b>13</b>
<b>4.4 Análise estatística.....</b>	<b>14</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>15</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>22</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>23</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>26</b>

# INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS

Roque Soares Martins Neto<sup>1</sup>  
Rafael Linard Avelar<sup>2</sup>  
Paulo Goberlânio de Barros Silva<sup>3</sup>

## RESUMO

As úlceras traumáticas orais (UTO) são processos dolorosos significativos em cavidade oral que trazem desconforto e dificuldade alimentar. Fármacos com potencial antiinflamatório são importantes ferramentas farmacológicas no controle dos sintomas das UTO. A pioglitazona é um agonista dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gamma (PPAR $\gamma$ ) utilizados no controle da hiperglicemia, apresentando potencial pró-cicatrizante por mecanismos envolvendo bloqueio do Fator de Transcrição Nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) e citocinas pro inflamatórias como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), mediadores fortemente associados com o retardo de cicatrização das UTO. O objetivo desse estudo é avaliar a influência da pioglitazona no processo de cicatrização de UTO em ratos. Para isso 128 ratas Wistar (180-220g) foram aleatoriamente divididas em um grupo controle (GC) tratado com solução salina (0,1 ml / kg) e três grupos testes tratados com pioglitazona 5 (PIO5) 15 (PIO15) ou 45 (PIO45) 45 mg/kg por gavagem diariamente de antes da indução da UTO até a eutanásia após 1, 3, 7 e 14 dias (n=8/grupo/dia). Um punch de 6 mm de diâmetro e 1mm de profundidade foi usado para confecção das UTO. Os resultados foram expressos em forma de média  $\pm$  erro-padrão ou mediana (mínima e máxima) e submetidos aos testes ANOVA (1-way ou 2-way)/Bonferroni ou Kruskal-Wallis/Dunn ( $p < 0,05$ , GraphPad Prism 5.0). Comparando os grupos tratados com pioglitazona 5, 15 e 45 mg/kg/dia ao grupo controle tratado com solução salina, podemos confirmar o potencial efeito antiinflamatório da Pioglitazona. Além da atividade antiinflamatória podemos confirmar também a inibição do recrutamento de neutrófilos para os locais de inflamação.

**Palavras-chave:** PPAR gama; Cicatrização; Úlceras Orais.

---

<sup>1</sup> Mestrando em Ciências Odontológicas – Centro Universitário Christus

<sup>2</sup> Doutor em Cirurgia Buco-Maxilo-Facial. Docente do curso de Odontologia da Unichristus.

<sup>3</sup> Doutor em Estomatopatologia. Docente do curso de Odontologia da Unichristus.

## ABSTRACT

Traumatic oral ulcers (UTO) are painful processes influenced by the oral cavity that cause discomfort and difficulty eating. Drugs with anti-inflammatory potential are important pharmacological tools to control UTO symptoms. Pioglitazone is a gamma peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR $\gamma$ ) agonist used to control hyperglycemia, with pro-healing potential through mechanisms involving the blockade of Nuclear Transcription Factor kappa B (NF- $\kappa$ B) and pro-inflammatory cytokines such as Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), mediators strongly associated with delayed wound healing. UTO. The aim of this study is to evaluate the influence of pioglitazone on the UTO healing process in rats. For this, 128 Wistar rats (180-220g) were randomly divided into a control group (CG) treated with saline solution (0.1 ml/kg) and three groups of testes treated with pioglitazone 5 (PIO5) 15 (PIO15) or 45 (PIO45) 45 mg/kg by gavage daily from before UTO induction until euthanasia after 1, 3, 7 and 14 days (n=8/group/day). A 6 mm diameter and 1 mm deep punch was used to make the UTO. Results were expressed as mean  $\pm$  standard error or median (minimum and maximum) and presented using ANOVA (1-way or 2-way)/Bonferroni or Kruskal-Wallis/Dunn tests (p<0.05, GraphPad Prism 5.0). Comparing the groups treated with pioglitazone 5, 15 and 45 mg/kg/day to the control group treated with saline solution, we can confirm the potential anti-inflammatory effect of pioglitazone. In addition to anti-inflammatory activity, we can also confirm the recruitment of neutrophils to sites of inflammation.

**Key words (DeCS):** PPAR gamma; healing; oral ulcers.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Úlceras Orais

As úlceras orais são lesões comuns na clínica odontológica, se apresentam na grande maioria das vezes de forma circulares, rasas e com cunho intensamente doloroso. Apresentam ainda uma pseudomembrana brancoacinzentada superficial bordeada por um halo eritematoso (ROGERS, 1977). Caracterizadas por serem predominantemente agudas, são localizadas em qualquer parte da mucosa oral e possui a etiologia multifatorial, sendo a maioria das causas resultantes de dano mecânico. Mordidas acidentais durante a mastigação, traumas por aparelhos ortodônticos, uso de próteses, escovação excessiva, contato com alimentos cortantes são as causas mecânicas mais comuns das úlceras orais (CORNEJO *et al.*, 2007).

As úlceras orais também podem ser de carácter imunológico, em condições locais ou sistêmicas, hereditário e infeccioso. Dentre as mais prevalentes existem as úlceras aftosas recorrentes (UAR) que afetam de 5 a 66% da população mundial, variando sua incidência de acordo com as características sociais e populacionais e que geralmente persistem por mais de três semanas (LIMA *et al.*, 2005).

Histopatologicamente, as úlceras orais se apresentam como uma descontinuação do epitélio de recobrimento e são cobertas por uma membrana fibrinogranulocítica que consiste em uma mistura de fibrina e neutrófilos, com membrana de espessura variável. O epitélio superficial adjacente pode ser normal ou levemente hiperplásico com ou sem hiperqueratose. A base da úlcera consiste em tecido de granulação sustentando um infiltrado inflamatório misto inicialmente composto por neutrófilos e logo depois por linfócitos, macrófagos, e raramente plasmócitos (AZUL; TRANCOSO, 2006; ALVES, 2008).

A constituição do infiltrado irá variar de acordo com a fase de evolução da úlcera, nas fases iniciais os neutrófilos predominam, realizando fagocitose de bactérias e são progressivamente substituídos por monócitos. Aproximadamente 3 a 5 dias após a lesão o perfil histológico da úlcera começa a apresentar alterações, o infiltrado celular torna-se predominantemente histiolinfoplasmocitário, que é característico da inflamação crônica. Nesta fase que há a proliferação de vasos sanguíneos e fibroblastos, sinalizando o início do reparo tecidual. Embora os neutrófilos sejam células características do processo de inflamação aguda, eles também po-



dem ser encontrados em locais de inflamação crônica, tais como no caso de uma infecção bacteriana ou de tecido necrótico, e podem também persistir se continuamente recrutados por agentes quimiotáticos (TARNAWSKI, 2005).

As lesões ulceradas de origem traumática, bastante comuns em cavidade oral, também não possuem protocolo terapêutico estabelecido, sendo tratadas apenas no sentido de aliviar o quadro sintomatológico, e para tanto diversos medicamentos e combinações de formulações farmacológicas são prescritos (COELHO; ARAÚJO, 2005). O processo de cicatrização de mucosas em ratos é similar ao de cicatrização em seres humanos e a proposta do modelo de úlcera em mucosa jugal de ratos pode ser considerada como um processo eficiente que oferece reprodutibilidade, confiabilidade e baixo custo (CAVALCANTE *et al.*, 2011).

### ***1.1.2 Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma***

PPARS (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma) são fatores de transcrição da família de receptores nucleares, caracterizados por seu padrão de distribuição nos tecidos e por sua função metabólica. Esses fatores de transcrição ligantes dependentes regulam a expressão do gene-alvo pela ligação a específicos PPREs (elementos responsivos aos proliferadores de peroxissoma) situados em sítios regulatórios de cada gene. Três proteínas, foram identificadas e se apresentam de acordo com a codificação dos genes correspondentes a cada uma, são elas: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  e PPAR $\gamma$ . (Vladimir Tavares *et al.*, 2007)

Dentre as proteínas distintas, o gene PPAR $\gamma$  é capaz de originar RNA mensageiros, identificados por PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 e PPAR $\gamma$ 3, que podem ser encontrados em diversos tecidos do corpo humano, como, coração, rins, macrófagos e intestino grosso, com destaque a sua predominância no tecido adiposo (Vladimir Tavares *et al.*, 2007)

Atuando de forma direta sobre processos transcricionais, quando ativados, os receptores nucleares se mostram eficazes no controle sobre expressão de genes-alvo, regulando biologicamente processos reprodutivos, metabólicos e de desenvolvimento. Além de implicar no controle do ciclo celular, imunomodulação e inflamação. (PEREIRA, 2008; MOEZI *et al.*, 2013)

Agonistas dos PPARs possuem funções benéficas diante de portadores de doenças coronarianas melhorando o perfil inflamatório e metabólico e a relação entre o metabolismo e PPARs, foi intensificada após a identificação de um receptor para a classe de um grupo de

drogas que possuíam a singularidade de aumentar à sensibilidade a insulina, as tiazolidinedionas (TZD). Pioglitazona, rosiglitazona e troglitazona, são as três drogas pertencentes ao grupo, atualmente aplicadas em larga escala nas práticas clínicas, são potentes e possuem alta seletividade pelo PPAR $\gamma$ . (TAVARES *et al.*, 2007)

Há evidências que os PPAR $\gamma$  atuem na restauração do número de mastócitos, importantes células envolvidas no processo de vasculogênese que leva a aceleração no reparo tecidual. Além, de processos inflamatórios e expressão de citocinas que sofrem alterações e modulações pela pioglitazona, considerada um ligante específico para o PPAR $\gamma$ . Sugere-se também que há uma inibição na ativação do fator nuclear kappa B, por conta dos ligantes que inibem a síntese das citocinas pró-inflamatórias. (TORRES *et al.*, 2012; MOEZI *et al.*, 2013; OKADA *et al.*, 2002).

## 1.2 Pioglitazona

Dentro os agonistas do PPAR $\gamma$  destaca-se a pioglitazona, sendo uma das mais promissoras no controle imunológico para a cicatrização. A pioglitazona é um antidiabético da classe das tiazolidinediona com ações semelhantes às os da rosiglitazona. A pioglitazona depende da presença de insulina para seu mecanismo de ação. É utilizado no tratamento da diabetes mellitus tipo 2. pioglitazona é um receptor gama ativado por proliferador de peroxissomo do receptor nuclear Ativador (PPAR $\gamma$ ). Em modelo murino de dieta rica em frutose e colesterol o tratamento com pioglitazona reduziu significativamente a expressão hepática de TNF- $\alpha$  e melhorou a lesão de isquemia/reperfusão hepática em ratos via supressão do TNF- $\alpha$  (COLLINO, 2010).

Dessa forma, esse ligante específico do PPAR $\gamma$  foi implicado no controle de processos inflamatórios e a modulação da expressão de diversas citocinas, inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e a Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) por monócitos (JIANG, 1998), provavelmente devido a inibição da ativação do factor nuclear kappa B (NF-kB) (SU, 1999).

Outros estudos demonstraram que a pioglitazona reduz níveis séricos de IL-1 $\beta$  e por modular negativamente a síntese de óxido nítrico. (MOEZI, 2013) e em modelo de diabetes tipo 2 em camundongos com angiogênese prejudicada devido à diabetes, a pioglitazona restaurou o fluxo sanguíneo e recuperou a densidade capilar no músculo isquêmico por modulação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (HUANG,2008).

Assim, tendo em vista que nas úlceras orais a intensidade do processo inflamatório é diretamente proporcional ao retardo na cicatrização e que a pioglitazona mostra atenuar fortemente o processo inflamatório e melhora da angiogênese, é objetivo deste trabalho avaliar a influência do tratamento com pioglitazona no processo de cicatrização de úlceras orais em ratos.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Estudos mostram a pioglitazona como uma droga promissora no controle imunológico para a cicatrização, devido a sua capacidade de imunomodulação em algumas citocinas que fazem parte do processo pró-inflamatório e de cicatrização como TNF e IL, através dos monócitos. Esse fármaco já possui diversos estudos que comprovam sua efetividade no tratamento de úlceras gástricas em modelo experimental com animais. Porém não existem muitos estudos que avaliem o uso da pioglitazona em úlceras orais em ratos.

Estudar os mecanismos antiinflamatórios da pioglitazona, um agonista do PPAR $\gamma$ , no processo de cicatrização de úlceras orais pode subsidiar abordagens farmacológicas futuras no delineamento de tratamentos para as úlceras em boca, bem como avançar o conhecimento acerca dessa via que parece ser promissora no controle do processo inflamatório.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a influência do tratamento com pioglitazona no processo de cicatrização de úlceras orais em ratos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- a) Avaliar macroscópica e histologicamente a influência do tratamento com pioglitazona no processo de cicatrização de úlceras orais em ratos;
- b) Avaliar a influência do tratamento com pioglitazona na nocicepção, ingestão alimentar e variação ponderal de ratos submetidos a modelo experimental de úlceras orais;
- c) Avaliar a influência do tratamento com pioglitazona no perfil celular e de mediadores inflamatórios em ratos submetidos a modelo experimental de úlceras orais.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Abordagem ética, cálculo do tamanho da amostra e grupos experimentais

Este estudo foi submetido à Comissão Ética no Uso de Animais da Unichristus, sendo iniciado apenas após aprovação. Todos os experimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos para Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (Anexo 1).

A fim de estimar a amostra necessária nos baseamos no estudo de Domi *et al.* (2016) que observou que o tratamento com pioglitazona, um agonista do PPAR $\gamma$  melhora a resposta ao estresse em estudos de comportamento animal quando comparado ao grupo controle não tratado (Média $\pm$ DP = 58,00 $\pm$ 43,27 versus 113,80 $\pm$ 36,06 segundos), estimando-se necessário avaliar 8 animais por grupo de estudo a fim de obter uma amostra que represente com 80% de poder e 95% de confiança a hipótese alternativa deste estudo (teste t de Student).

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

$\bar{x}$  = média da amostra 1;  $\mu_0$  = média da amostra 2;  $s$  = desvio-padrão amostral;  $n$  = tamanho da amostra.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: um grupo tratado com solução salina (0,1 ml / kg) e três grupos tratados com pioglitazona em doses diferentes (PIO5 = pioglitazona 5 mg / kg; PIO15 = pioglitazona 15 mg / kg; PIO45 = pioglitazona 45 mg / kg) por gavagem (MOEZI, 2013). Os animais receberam gavagem diária de 0,1 ml / kg de cada solução imediatamente antes da indução da úlcera oral e continuaram recebendo as soluções até a eutanásia que foi realizada após 1, 3, 7 e 14 dias da indução das úlceras assim divididos:

Tabela 1 – Divisão amostral dos grupos experimentais

	<b>Dias de eutanásia</b>				<b>Total</b>
	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 7</b>	<b>Dia 14</b>	
<b>Salina</b>	n=8	n=8	n=8	n=8	n=32
<b>PIO5</b>	n=8	n=8	n=8	n=8	n=32
<b>PIO15</b>	n=8	n=8	n=8	n=8	n=32
<b>PIO45</b>	n=8	n=8	n=8	n=8	n=32
<b>Total</b>	<b>n=32</b>	<b>n=32</b>	<b>n=32</b>	<b>n=32</b>	<b>n=128</b>

Fonte: Elaborada pelo autor.

Esse desenho de estudo foi baseado em estudos previamente publicados em periódicos de alto impacto pela equipe que demonstrou a influência de diferentes momentos (CAVALCANTE *et al.*, 2011; BRIZENO *et al.*, 2014) e diferentes doses de fármacos (MESQUITA *et al.*, 2019) na cicatrização das úlceras orais em ratos.

#### 4.2 Úlcera oral, parâmetros clínicos e eutanásia

Um total de 128 ratas Wistar fêmeas (n=8/grupo/dia de eutanásia) foram utilizadas nesse estudo. A ulceração da mucosa oral de ratos Wistar fêmeas foi realizada uma hora após o tratamento. Os animais foram anestesiados através de uma injeção intraperitoneal de cetamina (80 mg / kg, i. P.) e xilazina (20 mg / kg, intraperitoneal). A antissepsia da mucosa oral foi realizada usando pelotas de algodão embebidas em digluconato de clorexidina a 0,12%. A mucosa bucal esquerda foi ulcerada utilizando um punch de 6 mm de diâmetro e 1mm de profundidade e o fragmento de tecido mole foi removido com um bisturi e lâmina nº 15.

Os animais foram pesados no dia zero (peso inicial) e pesados e eutanasiados após 1, 3, 7 e 14 dias (peso final) da ulceração. A massa corporal foi avaliada de acordo com a seguinte fórmula: peso final / peso inicial \* 100 (%). Após a eutanásia, as úlceras foram medidas usando um paquímetro digital de precisão de 0,5 mm (D = maior diâmetro; d = diâmetro menor) e os tamanhos das áreas ulceradas foram expressos usando a seguinte fórmula:  $A = \pi \cdot D \cdot d / 4$  (mm<sup>2</sup>) (BRIZENO *et al.*, 2016).

#### 4.3 Processamento e avaliação histológica

As amostras de mucosa bucal foram coletadas 1, 3, 7 e 14 dias após a ulceração, fixadas em formalina neutra a 10% por 24 h, desidratadas em séries alcoólicas graduadas, diafanizadas em xilol e impregnadas com parafina. As amostras foram cortadas em lâminas de vidro com 3 µm de espessura para serem coradas com hematoxilina e eosina (HE).

As seções foram analisadas usando um microscópio óptico (BX43, Olympus® com o software Olympus Soft Imaging LCMicro software e exportado para o ImageJ®), e serão descritas as características histológicas das úlceras e as correspondentes fases de cicatrização, pontuados em uma escala de 0 a 4, como segue: (0) ausência de úlcera / tecido conjuntivo remodelado (fibras de colágeno maduras, homogêneas e paralelas); (1) ausência de úlcera / fibrose (deposição notável e difusa das fibras de colágeno), com inflamação crônica leve; (2) úlcera / fibrose, com inflamação crônica moderada; (3) úlcera / inflamação crônica (tecido de granulação); (4) úlcera / processo agudo (vasos dilatados e infiltrado inflamatório misto contendo neutrófilos) (BRIZENO *et al.*, 2016).

#### **4.4 Análise estatística**

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, expressos em forma de média e erro-padrão da média e comparados por meio dos testes ANOVA-2-way seguido do pós teste de Bonferroni (GraphPad Prism 6.0 para Windows,  $p < 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS

Após o primeiro dia de ulceração a área de úlcera dos animais tratados com solução salina apresentou uma média de  $23,47 \pm 1,19$  mm<sup>2</sup>. Os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram áreas médias de  $22,45 \pm 1,13$ ,  $14,44 \pm 2,86$  e  $8,53 \pm 1,31$  mm<sup>2</sup>, respectivamente. Os grupos tratados com as duas maiores doses de pioglitazona apresentaram redução significativa da média de área de úlcera em relação ao grupo tratado com solução salina ( $p < 0,001$ ).

Após três dias de ulceração a área média dos animais tratados com solução salina foi de  $20,41 \pm 1,60$  mm<sup>2</sup> e os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram áreas médias de  $12,16 \pm 1,70$ ,  $10,39 \pm 1,52$  e  $10,09 \pm 3,71$  mm<sup>2</sup> respectivamente. Todos os grupos tratados com pioglitazona apresentaram redução significativa da média de área de úlcera em relação ao grupo tratado com solução salina ( $p = 0,006$ ).

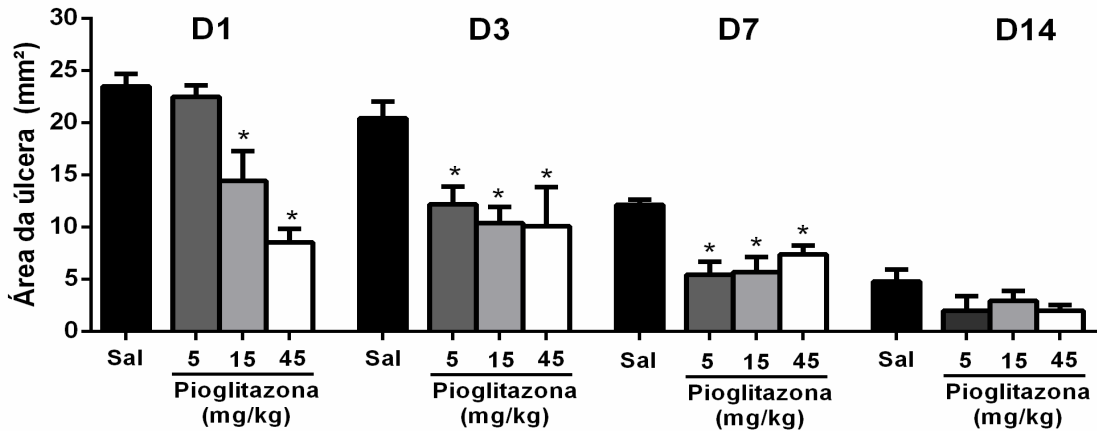
Após sete dias de ulceração a área média dos animais tratados com solução salina foi de  $12,15 \pm 0,50$  mm<sup>2</sup> e os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram áreas médias de  $5,43 \pm 1,24$ ,  $5,67 \pm 1,46$  e  $7,36 \pm 0,85$  mm<sup>2</sup> respectivamente. Todos os grupos tratados com pioglitazona apresentaram redução significativa da média de área de úlcera em relação ao grupo tratado com solução salina ( $p = 0,003$ ).

Após 14 dias de ulceração não houve diferença significativa nas áreas de úlcera dos grupos tratados com solução salina ( $4,78 \pm 1,17$  mm<sup>2</sup>), ou pioglitazona 5 ( $1,96 \pm 1,42$  mm<sup>2</sup>), 15 ( $2,93 \pm 0,98$  mm<sup>2</sup>) ou 45 ( $1,98 \pm 0,53$  mm<sup>2</sup>) mg/kg/dia ( $p = 0,256$ ).

A análise de dois fatores demonstrou que o tratamento exerceu influência significativa sobre o tempo na cicatrização das úlceras ( $p < 0,001$ ), apresentando todos os grupos tratados com pioglitazona redução significativa na área de úlcera em relação ao grupo tratado com solução salina (Figura 1).



Figura 1 – Mensuração da área de ferida de ratas submetidas a modelo de úlcera traumática oral em mucosa jugal e tratadas diariamente com diferentes doses de pioglitazona, um agonista PPAR.



Fonte: Elaborada pelo autor.

\* $p < 0,05$  versus solução salina; Teste ANOVA-2-way/Bonferroni; D = dia após a ulceração; Média $\pm$ EPM.

Após o primeiro dia de ulceração todos os animais demonstraram perda de peso. A variação de massa dos animais tratados com solução salina apresentou uma média de  $99,80 \pm 0,20\%$ . Os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram áreas médias de  $99,68 \pm 0,21$ ,  $98,53 \pm 1,19$  e  $98,83 \pm 2,72\%$ , respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos ( $p=0,164$ ).

Após três dias de ulceração ainda havia perda de peso em todos os grupos experimentais. A área média dos animais tratados com solução salina foi de  $96,72 \pm 0,82\%$  e os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram áreas médias de  $95,49 \pm 1,76\%$ ,  $97,56 \pm 0,73\%$  e  $96,77 \pm 1,24\%$  respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos ( $p=0,521$ ).

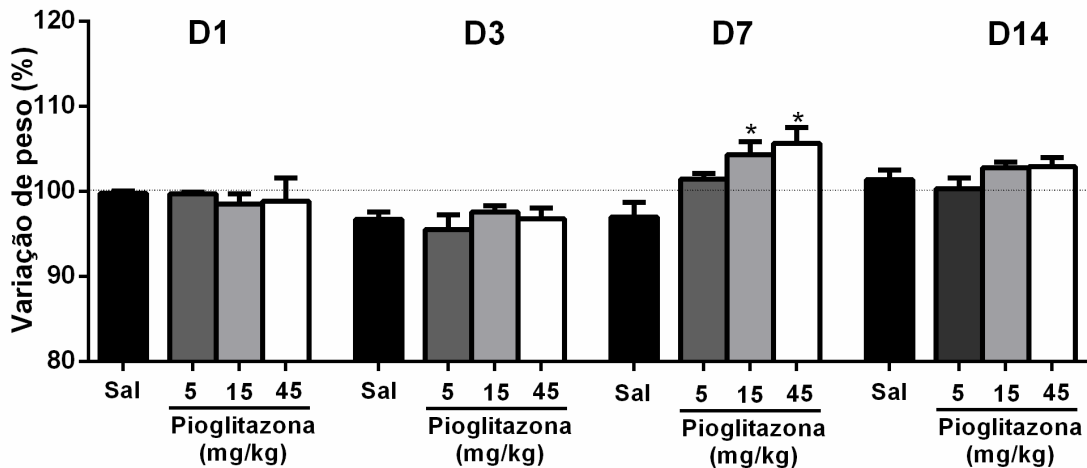
Após sete dias de ulceração a ainda havia perda de peso nos animais tratados com solução salina foi de  $96,95 \pm 1,73\%$ , mas os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram ganho significativo de massa corporal de  $101,40 \pm 0,69$ ,  $104,30 \pm 1,53$  e  $105,60 \pm 1,89\%$  respectivamente ( $p=0,005$ ).

Após 14 dias de ulceração todos os animais já demonstraram ganho de massa sem diferença significativa entre os grupos tratados com solução salina ( $101,40 \pm 1,13\%$ ), ou pioglitazona 5 ( $100,30 \pm 1,25\%$ ), 15 ( $102,80 \pm 0,63\%$ ) ou 45 ( $102,90 \pm 1,09\%$ ) mg/kg/dia ( $p=0,277$ ).

A análise de dois fatores demonstrou que o tratamento exerceu influência significativa sobre o tempo na cicatrização das úlceras ( $p=0,016$ ), apresentando os animais tratados

com pioglitazona 45mg/kg/dia aumento significativa na massa corporal em relação ao grupo tratado com solução salina.

Figura 2 – Variação de massa corporal de ratas submetidas a modelo de úlcera traumática oral em mucosa jugal e tratadas diariamente com diferentes doses de pioglitazona, um agonista PPAR.



Fonte: Elaborada pelo autor.

\* $p < 0,05$  versus solução salina; Teste ANOVA-2-way/Bonferroni; D = dia após a ulceração; Média $\pm$ EPM.

No primeiro dia todos os animais apresentaram uma mediana 4, correspondente de escores inflamatórios correspondente a úlcera aberta com intenso infiltrado inflamatório polimorfonuclear no tecido conjuntivo subjacente, sem diferenças significantes entre os grupos ( $p=0,417$ ), apesar de haver uma menor intensidade de células inflamatórias.

Após três dias da ulceração, os grupos salina e tratados com pioglitazona 5mg/kg/dia continuaram a apresentar uma mediana de escores inflamatórios de 4, mas os grupos tratados com pioglitazona 15 e 45 mg/kg/dia apresentaram mediana de escores inflamatórios 3, que corresponde a úlcera aberta com tecido de granulação no tecido conjuntivo subjacente. Esses grupos apresentaram redução significativa dos escores quando comparado ao salina ( $p=0,042$ ).

Após sete dias os grupos salina e tratados com pioglitazona 5 e 15 mg/kg/dia apresentaram mediana de escores inflamatórios 3 e, apesar de não haver diferença significativa ( $p=0,184$ ) o grupo tratado com 45 mg/kg/dia já demonstrou mediana de escores inflamatórios 2 que corresponde a úlcera aberta com moderado infiltrado inflamatório mononuclear no tecido conjuntivo subjacente.

No 14º dia após a ulceração apenas o grupo salina apresentou mediana de escores 2 e todos os grupos tratados com pioglitazona, apesar de não haver diferença significativa ( $p=0,208$ ) apresentaram mediana 1, que corresponde a reepitelização total do epitélio com discreto infiltrado inflamatório mononuclear no tecido conjuntivo subjacente.

Em todos os grupos a redução significativa dos escores de inflamação aconteceu após 14 dias da ulceração ( $p<0,001$ ).

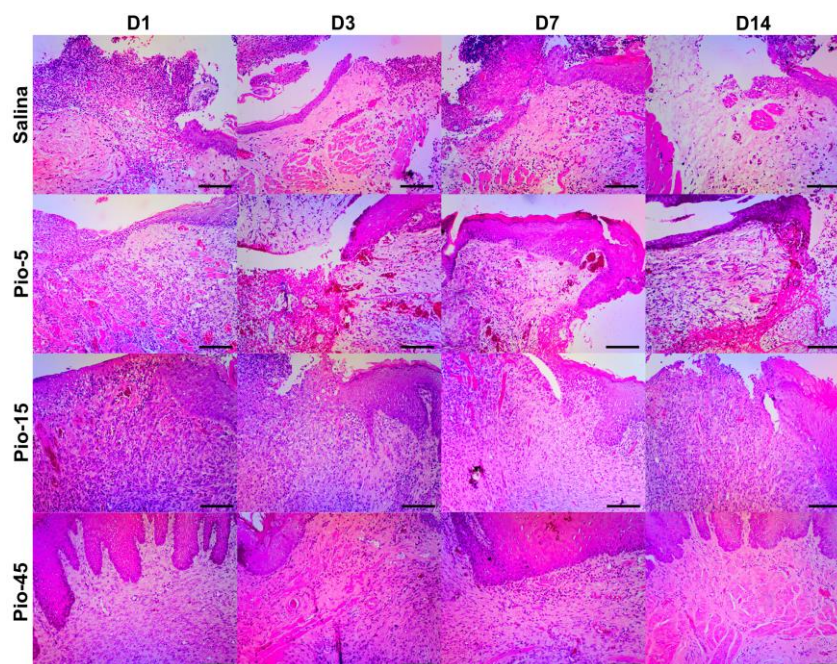
Tabela 2 – Escores de inflamação

Grupo	Tempo (dias)				p-Valor
	1	3	7	14	
Salina	4 (4-4)	4 (3-4)	3 (3-4)	2 (0-3)†	<0,001
Pio-5	4 (4-4)	4 (3-4)	3 (1-3)	1 (0-2)†	<0,001
Pio-15	4 (3-4)	3 (3-4)*	3 (3-4)	1 (0-3)†	<0,001
Pio-45	4 (3-4)	3 (3-4)*	2 (0-3)	1 (0-2)†	<0,001
<b>p-Valor</b>	0,417	<b>0,042</b>	0,184	0,208	

Fonte: Elaborada pelo autor.

\* $p<0,05$  versus salina no mesmo dia; † $p<0,05$  versus dia 1 do mesmo grupo; Teste Kruskal-Wallis/Dunn; Dados expressos em forma de mediana (mínimo-máximo).

Figura 3 – Análise Histológica



Fonte: Elaborada pelo autor.

## 6 DISCUSSÃO

As úlceras orais constituem um tipo de lesão que possui elevado índice de prevalência na mucosa oral. A ulceração constitui uma perda de continuidade do epitélio oral que tipicamente expõe terminações nervosas da lâmina própria, resultando, na maioria das vezes, em sintomatologia dolorosa. Neste sentido, uma úlcera é uma lesão que se forma através da perda de conteúdo pertencente ao epitélio e ao tecido conjuntivo subjacente. (LIMA *et al.*, 2005).

O tratamento das úlceras não é específico, sendo baseado primariamente em dados empíricos. Os objetivos da terapêutica incluem a gestão do comprometimento da função e da dor através da supressão da resposta inflamatória, assim como a redução da frequência do aparecimento de novas úlceras aftosas. Não existe um protocolo terapêutico estabelecido para o tratamento das úlceras orais, sendo tratadas apenas no sentido de aliviar o quadro sintomatológico, e para tanto diversos medicamentos e combinações de formulações farmacológicas são prescritos. (ALVES, 2008).

Tem sido amplamente discutido na literatura os efeitos anti-inflamatórios dos agonistas PPARs, onde a partir desses achados, foi sugerido o seu uso clínico para tratamento de diversas doenças de origem inflamatória (COLLINO *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2013).

Diversos estudos têm demonstrado que os agonistas de PPAR $\gamma$  apresentam atividade antiinflamatória. Os agonistas sintéticos rosiglitazona e troglitazona reduziram a inflamação em um modelo de colite induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico em camundongos em um estudo realizado por Desreumaux e colaboradores em 2001. Nesse mesmo estudo, observou-se que camundongos deficientes para PPAR $\gamma$  apresentaram uma inflamação mais acentuada. Da mesma forma, a troglitazona inibe inflamação do trato gastrointestinal induzida por dextrana e por azoximetano (TANAKA *et al.*, 2004).

Em um estudo onde foi utilizado a Pioglitazona para tratamento de úlcera gástrica induzida por ácido acético, foi possível reduzir a área média da úlcera e restaurar o fluxo sanguíneo na mucosa gástrica (KONTUREK *et al.*, 2003). A pioglitazona também reduz a área média de úlcera gástrica induzida por ácido acético e restaura o fluxo sanguíneo na mucosa gástrica (KONTUREK *et al.*, 2003). Essa TZD também reduz a esteatose, a necrose e a inflamação do fígado induzidas por etanol (ENOMOTO *et al.*, 2003). Em nosso estudo, todos os grupos que foram tratados com pioglitazona apresentaram redução significativa da média de área de úlcera em relação ao grupo tratado com solução salina.

Após o primeiro dia de ulceração todos os animais de nosso estudo demonstraram perda de peso, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. No terceiro dia de ulceração ainda havia perda de peso em todos os grupos experimentais. No sétimo dia de ulceração ainda havia perda de peso no grupo tratado com solução salina, mas os grupos tratados com 5, 15 e 45 mg/kg/dia de pioglitazona apresentaram ganho significativo de massa corporal. Isso pode ser justificado pela potencial ação antiinflamatória da Pioglitazona, nos primeiros dias já foi possível observar uma redução da área de úlcera, associada a diminuição do edema da região ulcerada. A diminuição da área ulcerada, edema e inflamação e como consequência um maior conforto na ingesta alimentar, permitiu um aumento da massa corporal nos ratos que estavam em tratamento com Pioglitazona comparada ao grupo tratado com solução salina.

Um estudo realizado por Lahiri *et al.*, 2009 demonstrou que a pioglitazona reduziu a secreção local de mediadores pró-inflamatórios como, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , decorrente da repressão da atividade do NF- $\kappa$ B durante a cicatrização de úlceras crônicas induzidas por ácido acético. Com relação as células imunes, principalmente os monócitos, é bem documentado na literatura que o PPAR- $\gamma$  regula a resposta inflamatória e exerce papel primordial no quadro da aterosclerose por meio deste tipo celular (NUNN *et al.*, 2007)

Além dos AINES tradicionais, diversos estudos demonstraram que os agonistas PPAR $\gamma$  inibem a produção de eicosanoide, contribuindo assim para um efeito antiedematogênico e antinociceptivo induzido por essas drogas. Assim, os agonistas de PPAR $\gamma$  inibem a expressão dos genes de COX-2 e iNOS, assim como a produção de COX-2 e PGE2 em macrófagos ativados por diversos estímulos inflamatórios

Um estudo demonstrou que agonistas naturais de PPAR- $\gamma$ , assim como os sintéticos, são uma boa alternativa como ferramentas terapêuticas na intervenção da asma e doenças alérgicas, sendo possível beneficiar os portadores destas doenças não apenas na melhora dos sintomas, mas através da atuação nos mecanismos patológicos, como ocorre com o ciglitazone que é capaz de inibir os efeitos das quimiocinas liberadas pelas células epiteliais, agindo assim como um componente antiinflamatório impedindo assim a migração celular (SERHA *et al.*, 2009).

Em nosso estudo, utilizamos a metodologia de escore inflamatório para avaliação histológica da área ulcerada. No primeiro dia, os animais de todos os grupos apresentaram um escore 4, correspondente a presença de úlcera / processo agudo (vasos dilatados e infiltrado inflamatório misto contendo neutrófilos). Apesar de haver uma menor intensidade de células

inflamatórias nos grupos tratados com Pioglitazona, não houve uma diferença estatisticamente significativa comparada ao grupo controle tratado com solução salina.

No terceiro dia de ulceração o grupo PIO 5 e o grupo controle ainda apresentava um escore inflamatório 4, já o grupo PIO 15 e PIO 45 apresentaram uma mediana de escore inflamatório 3, correspondente a uma área ulcerada (crônica) com presença de tecido de granulação no tecido conjuntivo subjacente, obtendo assim uma redução significativa compara ao grupo PIO 5 e ao grupo tratado com solução salina.

Após sete dias os grupos controle e tratados com pioglitazona 5 e 15 mg/kg/dia apresentaram mediana de escores inflamatórios, o grupo tratado com 45 mg/kg/dia já demonstrou mediana de escores inflamatórios 2 que corresponde a uma área ulcerada, contendo fibrose e uma inflamação crônica moderada. No 14º dia após a ulceração apenas o grupo controle apresentou mediana de escores 2 e todos os grupos tratados com pioglitazona, apesar de não haver diferença significativa, apresentaram mediana 1, que corresponde a reepitelização total do epitélio com discreto infiltrado inflamatório mononuclear no tecido conjuntivo subjacente.

Comparando os grupos tratados com pioglitazona 5, 15 e 45 mg/kg/dia ao grupo controle tratado com solução salina, podemos confirmar o potencial efeito antiinflamatório da Pioglitazona. Além da atividade antiinflamatória podemos confirmar também a inibição do recrutamento de neutrófilos para os locais de inflamação.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Após a realização desse trabalho que teve como objetivo avaliar a influência do tratamento com pioglitazona no processo de cicatrização de úlceras orais em ratos, podemos concluir que o tratamento com pioglitazona tem um potencial promissor na redução do processo inflamatório agudo em úlceras orais, acelerando assim o processo de cicatrização e retorno da função.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, P. M. Fatores de risco da ulceração aftosa recorrente –uma revisão dos achados atuais. **R. Ci. Méd. biol.**, Salvador; v. 7, n. 1, p. 76-84, jan./abr. 2008. DOI: <https://doi.org/10.9771/cmbio.v7i1.4361>
- AZUL, A. M., TRANCOSO, P. F. Patologia mais freqüente da mucosa oral. **Rev Port Clin Geral**, Lisboa, v. 22, p. 369-77, 2006.
- BRITO, L. F. *et al.* Produtos naturais ativadores de PPAR e marcadores associados ao processo inflamatório na Síndrome Metabólica. **Rev. Bras. Pl. Med**, Maringá, v. 15, n. 3, p. 449-466, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000300020>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/gmjbt84yCmY77J8smMzZ3mj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 05 out. 2020.
- BRIZENO, C. A. *et al.* Delayed healing of oral mucosa in a diabetic rat model: Implication of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and FGF-2. **Life Sciences**, Columbus, v. 155, p. 36-47, 2016. Doi: 10.1016/j.lfs.2016.04.033.
- CAVALCANTE, G. M. *et al.* Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. **Acta Chirurgical Brasileira**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 233, 2011. Doi: 10.1590/s0102-86502011000300012.
- COELHO, K.; ARAÚJO, C.S.A. Tratamento de ulcerações aftosas recorrentes: uma Revisão bibliográfica. **Publ. UEPG Biol. Health Sci.**, Ponta Grossa; v. 11, p. 39-45, set./dez. 2005.
- COLLINO, Massimo *et al.* Pioglitazone improves lipid and insulin levels in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet by decreasing hepatic inflammation. **British journal of pharmacology**, [s.l.], v. 160, n. 8, p. 1892-1902, ago. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1476-5381.2010.00739.x>. Acesso em: 05 out. 2020.
- ENOMOTO, N. *et al.* Prevention of ethanol-induced liver injury in rats by an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor-g, pioglitazone. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v. 306, n. 3, p. 846-854, set. 2003. Disponível em: <https://jpet.aspetjournals.org/content/306/3/846.long>. Acesso em: 05 out. de 2020.
- HUANG, P. H. *et al.* Pioglitazone ameliorates endothelial dysfunction and restores ischemia-induced angiogenesis in diabetic mice. **Biomed Pharmacother**, [s.l.], v. 62, p. 46-52, jan. 2008. DOI: 10.1016/j.biopha.2007.06.014.
- JIANG, C.; TING, A. T.; SEED, B. PPAR- $\gamma$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. **Nature**, [s.l.], v. 391, n. 6662, p. 82, jan. 1998. DOI: 10.1038/34184. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/34184>. Acesso em: 9 out. 2020.
- KONTUREK, P.C. *et al.* Pioglitazone, a specific ligand of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, accelerates gastric ulcer healing in rat. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam; v. 472, n. 3, p. 213-220, jul. 2003.



LAHIRI, S.; SEN, T.; PALIT, G. Involvement of glucocorticoid receptor and peroxisome proliferator activated receptor- in pioglitazone mediated chronic gastric ulcer healing in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam; v. 609, p. 118-125, mai. 2009.

LIMA, A.A.S. *et al.* Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v. 10, n. 5, p. 30-36, set./out. 2005.

LU, X. *et al.* Smooth muscle alpha-actin expression in endothelial cells derived from CD34+ human cord blood cells. **Send to Stem Cells Dev.**, Larchmont, v. 13, n. 5, p. 521-7, out. 2004. DOI: <http://doi.org/10.1089/scd.2004.13.521>.

MESQUITA, K. C. *et al.* Influence of abatacept treatment on oral wound healing: Experimental model on rats. **Life Sciences (Online)**, v. 243 p. 117243, fev. 2020. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117243.

MOEZI, L. *et al.* Enhanced anti-ulcer effect of pioglitazone on gastric ulcers in cirrhotic rats: the role of nitric oxide and IL-1 $\beta$ . **Pharmacological Reports**, Cracóvia, v. 65, n. 1, p. 134-143, 2013. DOI: 10.1016/s1734-1140(13)70971-x. Disponível em: [http://if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2013/1\\_134.pdf](http://if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2013/1_134.pdf). Acesso em: 10 out. 2020.

OKADA, M.; YAN, S. F.; PINSKY, D. J. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) activation suppresses ischemic induction of Egr-1 and its inflammatory gene targets. **The FASEB Journal**, Rockville, v. 16, n. 14, p. 1861-1868, 2002. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fj.02-0503com>. Acesso em: 05 out. 2020.

ROGERS, R. S. Recurrent Aphthous Stomatitis: Clinical Characteristics and Evidence for an Immunopathogenesis. **The Journal of Investigative dermatology**, Vienna, v. 69, p. 499-509, dez. 1977. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12687958. Disponível em: [https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)45161-9/pdf?\\_\\_cf\\_chl\\_rt\\_tk=iq2h4iL-Wfzx9pO6Rfg9XriMWedP4THS9\\_dng8yuInFQ-1690227225-0-gaNycGzNC5A](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)45161-9/pdf?__cf_chl_rt_tk=iq2h4iL-Wfzx9pO6Rfg9XriMWedP4THS9_dng8yuInFQ-1690227225-0-gaNycGzNC5A). Acesso em: 10 out. 2020.

SERHAN, C. N.; DEVCHAND, P. R. Novel antiinflammatory targets for asthma. A role for PPAR $\gamma$ ? **Am J Respir Cell Mol Biol.**, Nova York, v. 24, p. 658–661, jan. 2009. DOI: 10.1165/ajrcmb.24.6.f210. Disponível em: [https://www.atsjournals.org/doi/10.1165/ajrcmb.24.6.f210?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:cross-ref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.atsjournals.org/doi/10.1165/ajrcmb.24.6.f210?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:cross-ref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed). Acesso em: 05 out. 2020.

SOTOCINA, S. G. *et al.* The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Molecular pain (Online)**, v. 7, p. 1744-8069-7-55, jul. 2011. DOI: 10.1186/1744-8069-7-55. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3163602/?report=reader>. Acesso em: 10 out. 2020.

SU, C. G. *et al.* A novel therapy for colitis utilizing PPAR- $\gamma$  ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. **The Journal of clinical investigation**, Wheaton, v. 104, n. 4, p. 383-389, ago. 1999. DOI: 10.1172/JCI7145. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC408529/>. Acesso em: 05 out. 2020.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Dig Dis Sci.**, Nova York, v. 50, p. S24–33, 2005. DOI: 10.1007/s10620-005-2803-6.

TAVARES, V.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. C. Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (Ppargama): estudo molecular na homeostase da glicose, metabolismo de lipídeos e abordagem terapêutica. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, São Paulo, v. 51, n. 4, p. 526-533, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/zGM5jbdYS5HsfKHVxNnxpgJ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 out. 2020.

TORRES, R. C. *et al.* Activation of PPAR $\gamma$  by restores mast cell numbers and reactivity in alloxan-diabetic rats by reducing the systemic glucocorticoid levels. **European journal of pharmacology**, Amsterdam, v. 691, n. 1-3, p. 261-267, set. 2012. DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.06.010.

TANAKA, H. H. *et al.* Effects of prostaglandin D2 on helper T cell functions. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, [s.l], v. 316, p. 1009–1014, abr. 2004. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.02.151.

VON FREY, M. Untersuchungen über die Sinnesfunctionen der menschlichen Haut. Erste Abhandlung: Druckempfindung und Schmerz. Abhandl. der Mathematisch-physikalischen Classe d. Königl. Sächs. **Gesellsch. der Wissensch**, [s.l], v. 23, p. 173-266, 1896.

## Anexo 1

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE  
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS



Of. No. 005/20

Protocolo da CEUA: 005/20

Pesquisador Responsável: Prof. PAULO GOBERLÂNIO DE BARROS SILVA

Título do Projeto: INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 29 (vinte e nove) de abril de 2020.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Wistar	Número Amostral:	128
----------	--------	------------------	-----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 29/04/2021.

Fortaleza, 29 de abril de 2020.

Olga Vale Oliveira Machado  
Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE