EFEITO DA OBESIDADE NA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA POR LIGADURA EM RATOS

Hemily Victoria BardiniJosefino (BIC/CnPq), Evelyn Lopez Leite, Gilson Cesar Nobre Franco (Orientador), email: gilsoncnf@gmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Odontologia.

Ciências da Saúde/Odontologia/Clínica Odontológica

Palavras-chave: Doença periodontal, obesidade, inflamação.

Resumo

A associação entre alterações sistêmicas e a doença periodontal (DP) tem sido progressivamente investigada, devido ao possível impacto no processo imunoinflamatório, sendo a obesidade uma dessas condições. O presente estudo avaliou o efeito da obesidade na doença periodontal em ratos Wistar divididos em 4 grupos: G1 (dieta normocalórica), G2 (dieta normocalórica + DP), G3 (obesidade) e G4 (obesidade + DP). Após a eutanásia dos animais, foram coletadas as hemimandíbulas, as análises realizadas foram: análise macroscópica morfométrica periodontal - mensuração da perda óssea alveolar, peso das gorduras, peso corporal e medida da circunferência abdominal/Índice de Lee. Os animais obesos apresentaram maior peso médio das gorduras e dos órgãos. Não foram observadas diferenças significativas para o fator obesidade (ANOVA duas vias + pós teste de Tukey), entretanto o fator ligadura apresentou diferença significativa entre os grupos com e sem indução de DP. A progressão da perda óssea alveolar em ratos não foi influenciada pela indução da obesidade.

Introdução

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a obesidade está diretamente relacionada a alterações nas funções endócrinas e metabólicas do tecido adiposo, aumentando a capacidade de síntese de adipocitocinas ou adipocinas com ação pró-inflamatória. O aumento no plasma da concentração de citocinas pró-inflamatórias pode sugerir uma relação entre obesidade e doença bucais, dentre elas a doença periodontal (NISHIMURA et al.,2001).

A doença periodontal é um processo patológico marcado por uma cascata de reações imunológicas e inflamatórias, possui sua etiologia na agressão bacteriana que libera toxinas ativadoras de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF- alfa, entre outros), o que altera os mecanismos de homeostasia do hospedeiro, tendo como consequência a reabsorção e perda óssea alveolar (SON et al.,2015).

A associação da obesidade e a progressão da doença periodontal vem sendo estudada devido a necessidade de comprovação dos mecanismos inflamatórios na perda óssea alveolar. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi analisar o efeito da obesidade na doença periodontal.

Material e Métodos

Após a liberação da CEUA, os animais foram distribuídos em quatro grupos, de acordo com a obesidade e doença periodontal: Grupo 1 (normocalórico), Grupo 2 (normocalórico com ligadura), Grupo 3 (obesos) e Grupo 4 (obesos com ligadura). A indução da obesidade ocorreu pela dieta de cafeteria, por um período de 24 semanas.

ISSN 1676-0093

Os animais foram pesados duas vezes na semana. Os grupos 2 e 4 foram anestesiados com xilazina 10 mg/kg e quetamina 70 mg/kg, via injeção intraperitoneal, para a inserção da ligadura induzindo a doença periodontal. Dessa forma, adicionou-se um fio de algodão subgengivalmente ao redor dos primeiros molares mandibulares, por um período de 2 semanas previamente ao sacrifício.Após a eutanásia dos animais, as hemimandíbulas foram removidas e dissecadas, para a análise macroscópica histométria periodontal- mensuração da perda óssea alveolar. Adicionalmente, foram realizadas as seguintes análises: peso corporal, peso das gorduras retroperitoneal, perigonadal, marrom e mesentérica e medida da circunferência abdominal/Índice de Lee.
A mandíbula de cada animal foi fixada em formol tamponado (pH 7.2) durante 48h. Depois da fixação realizou-se a análise macroscópica das mandíbulas com o auxílio de uma lupa esteroscópica Zeiss com aumento de 20x, as amostras foram coradas com azul de metileno (1%), fixadas em um suporte e fotografadas. Analisou-se as imagens digitais para perda óssea alveolar usando o software ImageJ. Para determinar o índice de Lee realizou-se a pesagem dos animais e sua estatura por medida nasoanal e a circunferência foi medida na região abdominal. Executou-se os cálculos de Índice de Lee (raiz cúbica do peso corporal/estatura x 1000), para determinar a obesidade dos animais.

Resultados e Discussão
A tabela 1 apresenta a média final do peso corporal dos animais testados, observa-se que as maiores médias foram observadas nos grupos que receberam a dieta de cafeteria quando comparados ao grupo controle (normocalórico). Os animais mostraram aumento significativo da gordura visceral e retroperitoneal decorrente da alta quantidade de carboidratos e gordura contidos na dieta de cafeteria. Dessa forma, na tabela 2 foram analisados os pesos médios das gorduras e observou-se esse aumento relacionado ao peso de tecido adiposo nos animais que receberam a dieta de cafeteria, corroborando com os dados da literatura (CESARETTI et al.,2006).

Tabela 1. Média do peso corporal final (gramas) dos grupos estudados.

Peso corporal final	**G1**	**G2**	**G3**	**G4**
	424,14[a]	473,37[a]	571,11[b]	555,00[b]

Nota: Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0.01) entre os grupos (ANOVA dois fatores com pós-teste de Tukey)

O índice de Lee pode ser usado como forma rápida para determinar obesidade em ratos submetidos a um método de ganho de peso. Na tabela 3, são demonstrados os valores médios da circunferência abdominal e o índice de Lee dos animais de cada grupo. Estes resultados mostram que, em média, os ratos ficaram obesos com a dieta da cafeteria.
No gráfico 1, observa-se a média dos valores de perda óssea alveolar de ratos submetidos a dieta hipercalórica e dieta normocalórica, com e sem ligadura. O fator que interferiu na perda óssea alveolar foi a ligadura, entretanto a obesidade não teve interferência, dessa forma, foram observadas diferenças significativas entre os grupos com e sem ligadura, contudo não foram observadas diferenças significativas entre o grupo normocalórico e obesos. Esses achados estão de acordo com os resultados de estudos experimentais prévios (NASCIMENTO et al.,2013).

ISSN 1676-0093

Tabela 2. Média do peso das gorduras em gramas dos grupos estudados.

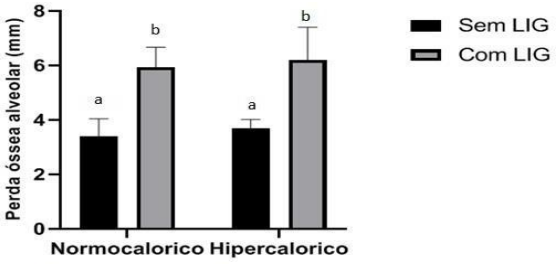
	G1	G2	G3	G4
Retroperitoneal	7,180[a]	10,082[a]	25,344[b]	27,722[b]
Mesentérica	3,592[a]	4,786[a]	9,459[b]	10,214[b]
Marrom	0,760[a]	0,980[ac]	1,539[bc]	1,587[b]
Perigonadal	6,414[a]	6,932[a]	14,799[b]	15,623[b]

Nota: Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0.01) entre os grupos (ANOVA dois fatores com pós-teste de Tukey)

Tabela 3. Média da circunferência abdominal e Índice de Lee dos grupos estudados.

	G1	G2	G3	G4
Circunferência abdominal	19,142	20,750	24,000	24,000
Índice de Lee	290,52	291,21	345,67	342,41

GRÁFICO 1- Média dos valores de perda óssea alveolar (milímetros)



Média (DP) dos valores de perda óssea alveolar (mm) de ratos submetidos a dieta hipercalorica, com e sem indução de perda óssea alveolar por ligadura (LIG) no primeiro molar inferior esquerdo. Fator ligadura, p<0.0001 (diferença significativa); Fator obesidade, p=0,2563 (sem diferença significativa), Fator interação, p=0.9300 (sem diferença significativa). Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0.01) entre os grupos (ANOVA de dois fatores com pós-teste de Tukey)

Muitos estudos explicam que a indução da perda óssea é ocasionada pela condição de obesidade e não pelo sobrepeso (SIMCH et al., 2009). Para considerar o quadro de obesidade nos animais, é necessário que os ratos experimentais apresentem diferença de peso corporal de aproximadamente 15% entre com relação ao grupo normocalórico, porém no presente estudo, foi encontrada a porcentagem de 20%, dessa forma, pode ser explicado fato de não haver diferença significativa entre os dois grupos pela condição de obesidade apresentar-se em seu estágio mais leve. Alguns estudos observaram diferença significativa na perda óssea alveolar em animais induzidos a obesidade. (FERNANDO; LUIZ, 2015). Essas diferenças de resultados podem ser justificadas pela heterogeneidade na metodologia entre os estudos que avaliaram perda óssea alveolar (SIMCH et al., 2009).

Conclusões

Levando em conta os resultados obtidos conclui-se que a obesidade induzida por dieta hipercalórica em ratos Wistar não apresentou interação significativa com o metabolismo ósseo na presença de periodontite experimental. No entanto, esses resultados apenas fornecem uma base e necessitam de mais comprovações para validar esses achados, sendo sugeridos mais estudos para identificar possíveis mecanismos envolvidos.

Agradecimentos

A CNPq pelo apoio financeiro. Ao prof. Dr Gilson Cesar Nobre Franco pela orientação e a coorientadora Evelyn Lopez Leite pela dedicação, orientação, paciência e todos os ensinamentos compartilhados.

Referências

CESARETTI MI., KOHLMANN JUNIOR. Experimental models of insulin resistance and obesity: lessons learned. **Arq. Brasileiro EndocrinolMetabol.** p. 190-197. Abr. 2006. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16767285. Acesso em: 20 fev. 2018.

FERNANDO, LUIZ. Efeito da obesidade na progressão e severidade da doença periodontal experimentalmente induzida em ratos: avaliação histomorfométrica e imunoistoquímica. Barretos, 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Escola Educacional de Barretos, Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, 2015. Disponível em: file:///C:/Users/home/Downloads/LuizFernando.pdf. Acesso em: 23 jul.2019.

NASCIMENTO,CM.;CASSOL,T.;SILVA,FS.;BONFLEUR,ML.;NASSAR,CA.;NASSAR, PO.; Radiographic evaluation of the effect of obesity on alveolar bone loss in rats with ligature-induced periodontal disease. **Diabetes MetabSyndrObes**. p. 365-370, 07 out. 2013; Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3794961/. Acesso em: 23 jul. 2019.

NISHIMURA F., MURAYAMA Y. Periodontal inflammation and insulin resistance--lessons from obesity. **Journal Dental Research.** Aug. 2001. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/00220345010800080201. Acesso em: 18 fev2018.

SIMCH, RP.; GAIO, EJ.; ROSSING, CK. Effect of body weight in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar Rats. **JournalOdontologicaScandinavica**; 2 jul. 2009. Disponível em:https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00016350802004672. Acesso em: 24 jul.2019.

SON, A.; SHIN, D. M; HONG, J. H. Peptidoglycan induces the production of interleukin-8 via calcium signaling in human gingival epithelium. **The Korean Journal of Physiology &Pharmacology.** V. 19, n. 1, p. 51-57,19 jan 2015. Disponível em: https://www.synapse.koreamed.org/search.php?where=aview&id=10.4196/kjpp.2015.19.1.51&code=0067KJPP&vmode=FULL. Acesso em: 14 abr; 2018.