EFEITO DA RESTRIÇÃO CALÓRICA NOS PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS APÓS LIGADURA EM RATOS WISTAR

Luise Adrieli Bochenek da Silva (PIBIC), Evelyn Lopez Leite, Gilson César Nobre Franco, e-mail: gilsoncnf@gmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia

Ciências da Saúde/Odontologia

Palavras-chave: Dieta, doença periodontal, análise clínica.

Resumo

Estudos em mamíferos mostram que a restrição calórica (RC) controla doenças inflamatórias crônicas, dentre elas, a doença periodontal. A doença periodontal (DP) caracteriza-se como a inflamação advinda de um desequilíbrio na interação entre biofilme e hospedeiro que leva a destruição de tecido conjuntivo e osso alveolar. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da dieta de restrição calórica nos parâmetros clínicos periodontais em ratos. Foram utilizados 48 ratos da linhagem Wistar com 21 dias de vida, distribuídos nos seguintes grupos: dieta normocalórica (1), dieta normocalórica + doença periodontal (2), dieta normocalórica + restrição calórica (3), dieta normocalórica + restrição calórica+ doença periodontal (4). O experimento durou 24 semanas. A indução da doença periodontal nos grupos 2 e 4 aconteceu na 22ª semana, por meio de ligadura, durante 2 semanas. Os animais foram eutanasiados ao fim de 24 semanas. As análises feitas foram: peso corporal, peso dos órgãos e medida da circunferência abdominal/Índice de Lee e análise clínica periodontal antes do sacrifício dos animais. A dieta de restrição calórica foi benéfica nos parâmetros clínicos periodontais analisados.

Introdução

A manutenção da saúde em diversas espécies, associada com o aumento da expectativa de vida, tem sido fortemente almejada nos últimos anos. Uma das estratégias para se alcançar este processo é a dieta de restrição calórica (RC). A definição de RC é descrita como a redução em cerca de 30-40% no consumo de energia e que não resulta em desnutrição. (MARTIN-MONTALVO et al., 2011, OPALACH et al., 2010).

Além da longevidade, estudos em mamíferos mostram que a RC beneficia outros processos que contribuem para a saúde, como controlar e possivelmente prevenir severas doenças inflamatórias crônicas incluindo doenças bucais, como a doença periodontal (GONZÁLEZ et al., 2012).

A doença periodontal (DP) caracteriza-se como inflamação progressiva advinda de uma alteração da interação entre o biofilme e o hospedeiro que induz perda óssea alveolar, com consequente sangramento e mobilidade (SIMA & GLOGAUER, 2013; YU et al., 2016). A DP afeta tanto a resposta imune local quanto a sistêmica, resultando na destruição do tecido conjuntivo e do osso, levando a perda de dentes, se não tratada (TATAKIS, KUMAR, 2005). Levando em conta a alta prevalência da doença periodontal na sociedade atual, associada a busca pela manutenção da saúde e redução de doenças inflamatórias crônicas ao longo da vida, o entendimento do possível benefício da dieta de restrição calórica em condições como a doença periodontal faz-se marcadamente fundamental. Para tanto, estudos

em animais, na tentativa de reduzir as possíveis variáveis e hábitos comportamentais, são considerados a base para elucidação de questões como a relação entre a RC e o impacto clínico na doença periodontal.
Porém, existem poucos estudos que investigam o efeito da restrição calórica na doença periodontal e necessitam-se novos estudos para consolidar esta relação, a fim de tornar viável a restrição calórica como uma alternativa de prevenção e diminuição da severidade e progressão da doença periodontal. Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da dieta de restrição calórica nos parâmetros clínicos periodontais em ratos.

Material e Métodos

Foram utilizados 48 ratos com 21 dias de vida da linhagem Wistar, obtidos no Biotério da Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Após o início da fase experimental os animais foram distribuídos nos seguintes grupos, de acordo com as condições de restrição calórica e doença periodontal: dieta normocalórica (1), dieta normocalórica + doença periodontal (2), dieta normocalórica + restrição calórica (3), dieta normocalórica + restrição calórica+ doença periodontal (4).
Os grupos 1 e 2 receberam alimentação integralmente durante as 24 semanas do experimento, enquanto que o grupo 3 e 4 passaram para a restrição calórica apenas no início da 13ª semana, recebendo exclusivamente ração padrão e água com redução de 30% quando comparado a quantidade que o grupo ad libitum consumiu na respectiva semana de experimento.
A indução da doença periodontal nos grupos 2 e 4 aconteceu na 22ª semana, ou seja, 2 semanas antes do fim do experimento. Os receberam anestesia geral com Xilazina 10 mg/Kg e Quetamina 70 mg/Kg, via injeção intraperitoneal. Após anestesia, os animais foram posicionados em mesa operatória apropriada, para permitir adequada abertura bucal e acesso aos dentes posteriores da mandíbula. A metodologia para indução da doença periodontal por ligadura foi seguida de acordo com o protocolo de Kose et al (2016). Os animais foram eutanasiados ao fim de 24 semanas.
O acompanhamento do peso corporal foi 2 vezes por semana em balança semianalítica de precisão. Os animais foram pesados e a circunferência foi medida na região abdominal e sua estatura por medida nasoanal por meio de fita métrica. Foram realizados cálculos de Índice de Lee (raiz cúbica do peso corporal/estatura x 1000) (NASCIMENTO et al, 2013). Previamente ao sacrifício dos animais, foi realizada a análise clínica dos molares em que foram colocadas as ligaduras e do periodonto adjacente baseada em quatro parâmetros: Índice gengival (IG), sangramento a sondagem (SS), presença de biofilme (BF) e mobilidade dentária (MD). Foram estabelecidos escores subjetivos para cada parâmetro que corresponderam a: gengiva normal (0); inflamação leve (1); inflamação moderada (2); inflamação severa (3) e de sem mobilidade (0); mobilidade leve (1); mobilidade moderada (2); mobilidade severa (3), para índice gengival e mobilidade dentária, respectivamente. Para os parâmetros de biofilme e do sangramento a sondagem foi adotada a classificação de ausente (0) ou presente (1) de acordo com critérios estabelecidos nos estudos de Rodini et al (2008). O tecido adiposo das regiões perigonadal, mesentérica, retroperitoneal e marrom foram removidos para pesagem em balança analítica de precisão. A análise dos dados foi feita de forma descritiva.

Resultados e Discussão

ISSN 1676-0093

Foi possível observar nos grupos 1 e 3, 0% dos animais apresentaram sangramento, enquanto que nos grupos 2 e 4, 100% e 91,62% dos animais apresentaram sangramento, respectivamente, o que já era esperado, pois estes animais sofreram a indução da Doença periodontal com a ligadura, modelo no qual o fio funciona como retentor de placa e atua provocando um trauma mecânico à área dentogengival, induzindo uma resposta inflamatória destrutiva local no periodonto, o que também explica a mobilidade encontrada nos grupos que foram induzidos à doença periodontal (VASCONCELLOS et al, 2006). No grupo 2, 45,50% dos animais apresentaram mobilidade grau 2 e 54,50% grau moderado. No grupo 4, 50% dos animais apresentaram mobilidade leve, 16,67% moderada e 8,33% severa. Também é possível verificar maior presença de biofilme nos grupos em que a doença periodontal foi induzida, pois a indução se deu por meio de ligadura, cujo o objetivo era mesmo ser um fator de acúmulo de biofilme. O índice gengival também teve resultados aumentados (2 e 4) na comparação com os demais grupos (1 e 3), onde no grupo 2, 18,18% dos animais tiveram inflamação leve, 45,50% inflamação moderada e 36,36% inflamação severa, e no grupo 4 66,67% tiveram inflamação leve e 33,33% inflamação severa. Esses dados refletem resultados semelhantes encontrados na literatura, em que a dieta de RC demonstrou atenuar a condição de doença periodontal (BRANCH & MAYS et al, 2008). O impacto da RC pode ser vantajoso e está associado a vários fatores, sendo um deles primordialmente relacionado a doença periodontal, que é a diminuição da liberação de mediadores pró-inflamatórios. Com isso, pode-se sugerir a diminuição local e sistêmica da inflamação (GONZÁLEZ et al, 2012).

O peso dos animais, dos órgãos e tecido adiposo foram tomados em balança analítica de precisão, adicionalmente a medida da circunferência abdominal e índice de Lee. A média do peso corporal final do grupo 1, 2, 3 e 4 foram 424.14, 473.37, 297.88, 315. 66, respectivamente. A média do peso do fígado dos animais dos grupos 1, 2, 3 e 4 foi de 14.489, 17.591, 10.162 e 9.8360, respectivamente. A Média do peso dos rins dos animais foi de 3.332, 3.777, 2.677 e 2,888, respectivamente. A média do peso das gorduras está descrita na tabela 1.

A média da circunferência abdominal e Índice de Lee dos grupos estudados ficaram da seguinte forma: Circunferência abdominal: 19,142(grupo 1), 20,750(grupo 2), 17,222(grupo 3) e 17,888(grupo 4); Índice de Lee: 290,52(grupo 1), 291,21(grupo 2), 271,69(grupo 3) e 276,98(grupo 4). O índice de Lee é uma determinação rápida da obesidade em ratos descrita em 1928. Pode ser usado como forma acurada e rápida de medir obesidade em um experimento submetido a um método de ganho de peso. Porém, é necessário associar esse índice com outros dados, como a circunferência abdominal, comprimento nasoanal (BERNARDIS; PATTERSON, 1968). No presente estudo, este índice, bem como o peso corporal, dos órgãos e das gorduras foram utilizados como meio de comparação entre os animais que sofreram a dieta de restrição calórica com animais obesos da mesma linha de pesquisa do grupo, sendo assim possível comprovar que os animais realmente passaram pela RC.

Tabela 1 - Média do peso das gorduras dos grupos estudados.

	G1	G2	G3	G4
Retroperitoneal	7,180	10,082	2,215	2,741
Mesentérica	3,592	4,786	1,236	1,380
Marrom	0,760	0,980	0,560	0,934
Perigonadal	6,414	6,932	2,127	2,487

ISSN 1676-0093

Conclusões

Observou-se que houve diferença entre os grupos, entre os que receberam a ligadura e os que não sofreram indução da doença periodontal nos escores sangramento, mobilidade, biofilme, e índice gengival. Além disso, nos grupos que receberam a ligadura (2 e 4), houve resultados favoráveis no grupo que também recebeu a dieta de restrição calórica (4), pois menos animais apresentaram sangramento a sondagem, mobilidade e inflamação severos, indicando possível ação benéfica da dieta de restrição calórica sobre os tecidos periodontais.

Agradecimentos

Agradeço à CNPQ, Fundação Araucária e UEPG por financiar esta pesquisa e dar todo o suporte necessário para que chegasse até o final com resultados satisfatórios.

Referências

1. BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **J Endocrinol,** v.40, n.4, p.527-8, abril,1968.
2. GONZÁLEZ, O. A. et al. Caloric Restriction and Chronic Inflammatory Diseases. **Oral Dis**, v.18, n.1, p.16-31, jan.2012.
3. KOSE, O.; ARABACI, T.; KARA, A. et al. Effects of melatonin on oxidative stress index and alveolar bone loss in diabetic rats with periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 87, n. 5, p. e82-e90, 2016.
4. MARTIN, M. et al. NRF2, cancer and calorie restriction. **Oncogene**. Inglaterra, v. 30, n. 5, p. 505-20, fev. 2011.
5. NASCIMENTO A.F. et al. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in wistar rats. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo, v.52, n.6, p 968-74, 2008.
6. OPALACH, K. et al. Lifelong calorie restriction alleviates age-related oxidative damage in peripheral nerves. **Rejuvenation Res**. Estados Unidos, v. 13, n. 1, p. 65-74, fev. 2010.
7. RODINI, C. O. **Doença periodontal inflamatória induzida por ligadura: caracterização microscópica e estudo da presença de mastócitos e das enzimas óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e metaloproteinase -2 e -9**. Faculdade de Odontologia de Bauru, Bauru, 2005.
8. RODINI, C.O. et al. Morphologic evaluation and expression of matrix metalloproteinases-2 and 9 and nitric oxide during experimental periodontal disease in rat. **J Mol Histol**, v.30, n. 3, p. 275-282, 2008.
9. SIMA, C.; GLOUGAER, M. Macrophage subsets and osteoimmunology: tuning of the immunological recognition and effector systems that maintain alveolar bone. **Periodontology 2000**. Singapura, v. 63, n. 1, p. 80-101, out. 2013.
10. TATAKIS, D. N.; KUMAR, P. S.; Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. **Dent Clin North**. Estados Unidos, v. 49, n. 3, p. 491-516, jul. 2005.
11. VASCONCELLOS, L.M. et al. Histological analysis of effects of 24% EDTA gel for nonsurgical treatment of periodontal tissues. **J Oral Sci**, v. 48, n.4, p. 207-214, dez, 2006.
12. YU, T. et al. Enhanced Activity of the Macrophage M1/M2 Phenotypes and Phenotypic Switch to M1 in Periodontal Infection. **J Periodontol**, v. 87, n. 9, p. 1092-102, set. 2016.