

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

ANDRESSA GASPARETTO MOREIRA

O EFEITO DA OBESIDADE E/OU DA PERIODONTITE INDUZIDA SOBRE A
ESPESSURA DAS AORTAS DE RATOS WISTAR

Porto Alegre

2017

ANDRESSA GASPARETTO MOREIRA

O EFEITO DA OBESIDADE E/OU DA PERIODONTITE INDUZIDA SOBRE A
ESPESSURA DAS AORTAS DE RATOS WISTAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade
de Odontologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção
do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Cavagni

Co-orientador: Prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker
Rösing

Porto Alegre

2017

CIP - Catalogação na Publicação

Moreira, Andressa Gasparetto

O efeito da obesidade e/ou da periodontite induzida sobre a espessura das aortas de ratos Wistar / Andressa Gasparetto Moreira. -- 2017. 27 f.

Orientador: Juliano Cavagni.

Coorientador: Cassiano Kuchenbecker Rösing.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Obesidade. 2. Periodontite experimental. 3. Dieta de cafeteria. 4. Aterosclerose. 5. Ratos. I. Cavagni, Juliano, orient. II. Rösing, Cassiano Kuchenbecker, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitária, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer;

Aos meus pais e familiares, pelo amor, apoio incondicional, e incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço;

Ao meu namorado, que nos momentos dedicados ao estudo superior, ficou do ao meu lado, e me fez entender que o futuro é feito a partir da dedicação no presente;

Aos meus amigos e colegas de trabalhos que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Juliano Cavagni, e co-orientador Prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker Rösing, pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Eduardo José Gaio e à Prof.^a Dra. Fernanda Visioli pela participação e apoio na elaboração deste trabalho;

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!

RESUMO

As doenças cardiovasculares são tratadas como uma condição altamente prevalente e é a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo. A literatura atual tem sugerido que a obesidade e a periodontite poderiam ser fatores de risco para essa condição. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a espessura da parede de aortas depois da indução de modelos de doença periodontal e/ou obesidade em ratos Wistar. Sessenta ratos foram randomicamente divididos em 4 grupos experimentais: controle (CT), doença periodontal (DP), obesidade (OB), e obesidade e doença periodontal (OB+DP). Grupos OB e OB+DP receberam dieta de cafeteria (hiperlipídica/hipercalórica) por 17 semanas. Depois de adquirir obesidade, na semana 12, a doença periodontal foi induzida por meio de ligadura no segundo molar superior direito dos grupos DP e OB+DP. Durante o período experimental, o peso corporal e o índice de Lee foram avaliados. Ao final do período experimental, os animais foram mortos. Todas as seguintes análises foram feitas por um examinador cego. A média de perda óssea alveolar (POA) foi avaliada, e as aortas preparadas para análises histotécnicas da parede aórtica (em μm) por meio do software ImageJ por um examinador cego. Os ratos expostos à dieta de cafeteria mostraram um aumento no peso corporal e no índice de Lee. Foi observada uma média maior de POA nos grupos DP e OB+PD em comparação ao controle e OB ($0,71 \pm 0,08$ e $0,84 \pm 0,11$ vs. $0,42 \pm 0,05$ e $0,45 \pm 0,08$, respectivamente). O grupo OB+DP, quando comparado ao DP, apresentou uma POA 18% maior, e essa diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Os grupos OB e OB+DP exibiram maiores espessuras comparados aos grupos controle e DP, respectivamente ($2,31 \pm 0,28$ e $2,33 \pm 0,29$ vs. $2,18 \pm 0,26$ e $2,14 \pm 0,27$). Diferenças significativas foram encontradas na comparação entre os grupos OB e controle ($p = 0,036$) e OB+DP e OB comparados com o grupo DP ($p = 0,004$ e $p = 0,001$, respectivamente). Pode-se concluir que o modelo de indução de obesidade parece alterar a espessura da parede de aortas em ratos Wistar. Entretanto, a presença de doença periodontal não teve efeito sobre a espessura da parede aórtica.

Palavras-chave: Obesidade. Periodontite experimental. Dieta de cafeteria. Aterosclerose. Ratos.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are a highly prevalent health condition and considered the main cause of morbidity and mortality worldwide. Studies have been suggesting that obesity and periodontitis may be risk factors for this disorder. This study aimed to evaluate the aortic wall thickness after periodontal disease (PD) and/or obesity (OB) induction models in Wistar rats. Sixty Wistar rats were randomly divided in four groups: control (CT), periodontal disease (PD), obesity (OB), and obesity plus periodontal disease (OB+PD). Groups OB and OB+PD received cafeteria diet (high fat/hypercaloric diet) throughout 17 weeks. After acquiring obesity, week 12, periodontal disease was induced by placing a silk ligature on the maxillary upper right second molar of groups PD and OB+PD. During the experimental period, body weight and Lee index were assessed. At the end of the experiment, animals were killed. All of the following analyzes were done by a blind examiner. Mean alveolar bone loss (ABL) was evaluated, and aortas prepared for histometric analysis of the aortic wall (in μm) by ImageJ software. Rats exposed to cafeteria diet showed an increase of body weight and Lee index. A higher mean ABL was observed in groups PD and OB+PD compared to control and OB (0.71 ± 0.08 and 0.84 ± 0.11 vs. 0.42 ± 0.05 and 0.45 ± 0.08 , respectively). Group OB+PD, when compared to PD, presented 18% higher ABL, and this difference was statistically significant ($p < 0.001$). Groups OB and OB+PD exhibited a higher thickness compared to control and PD groups, respectively (2.31 ± 0.28 and 2.33 ± 0.29 vs. 2.18 ± 0.26 and 2.14 ± 0.27). Significant differences were found in comparisons of group OB and control ($p=0.036$), and OB+PD and OB compared to PD group ($p=0.004$ and $p= 0.001$, respectively). It may be concluded that obesity induction model seems to alter aortic wall thickness in Wistar rats. However, the presence of periodontal disease did not affect the aortic wall thickness.

Keywords: Obesity. Experimental Periodontitis. Cafeteria Diet. Atherosclerosis. Rats.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	6
2 ARTIGO	9
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
REFERÊNCIAS	25
ANEXO – APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	26

1 APRESENTAÇÃO

A doença periodontal é uma doença multifatorial de origem infecciosa/ imunológica crônica que afeta os tecidos de suporte e sustentação dos dentes, e com a sua progressão, pode levar a perda dos mesmos. Além disso, é influenciada por alguns fatores de risco que são as condições locais e/ou sistêmicas que aumentam a probabilidade de desenvolver ou agravar a doença (SLOTS, 2013). Dentre os fatores de risco sistêmicos estão incluídos os fatores comportamentais, como tabagismo, condições médicas (diabetes descompensada), indicadores de risco como a obesidade, estresse, osteoporose e baixo consumo de cálcio e vitamina D (GENCO; BORGNAKKE, 2013). A partir disso, na prática clínica indicamos ao paciente que abandone ou modifique esses hábitos para o tratamento da doença. Existem outros fatores de risco como fatores genéticos, mas esses não podem ser modificados (GENCO; BORGNAKKE, 2013). Entretanto, saber quais pessoas tem esse risco de resultados adversos nos fornece um meio para direcionar a intervenção.

É sabido que algumas doenças podem influenciar a severidade da doença periodontal, como é o caso do diabetes mellitus. Nesse contexto, o termo Periodontia Médica, o qual Offenbacher, em 1996, definiu como a relação entre saúde/doença periodontal e saúde/doenças sistêmicas, no qual podemos entender que as infecções bucais agravam quadros de doenças sistêmicas e vice-versa (OFFENBACHER et al., 1996). Em uma revisão de literatura recentemente publicada, Cullinan e Seymour, observaram evidências para associação entre doença periodontal e doença cardiovascular, diabetes e parto prematuro (CULLINAN; SEYMOUR, 2013). Assim, uma nova forma de entender as doenças periodontais tem demonstrado uma provável relação entre as mesmas e inflamação sistêmica de baixa intensidade (CAIRO et al., 2010).

Segundo Paquette e colaboradores, a relação entre doença periodontal e doença sistêmica implica que a periodontite pode fornecer uma pista sobre outras doenças sistêmicas, mas não está claro se a periodontite é um determinante etiológico destas (PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007). Por isso, os pesquisadores veem a necessidade de definir o tipo de evidência que será suficiente para aceitar (ou rejeitar) o conceito de um efeito causador da periodontite sobre as principais doenças sistêmicas.

Dito isso, por se tratar de objeto de estudo da presente investigação dar-se-á destaque às doenças cardiovasculares (DCV), as quais segundo a OMS, são definidas como um grupo de distúrbios do coração e vasos sanguíneos incluindo hipertensão arterial, doenças

coronarianas, acidentes vasculares cerebrais, falência congestiva do coração e infarto do miocárdio. As DCV são tratadas como uma condição altamente prevalente na população e com altas taxas de morbidade e mortalidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

É consenso na área médica que as doenças cardiovasculares são causadas por um fenômeno denominado aterosclerose. A mesma se trata de uma forma de arteriosclerose causada por depósitos ateromatosos e fibrose da camada mais interna do endotélio dos vasos sanguíneos, observável após a alimentação de um elevado teor de gordura, ou seja, uma dieta de colesterol alto. Além disso, é considerada uma doença inflamatória e existe evidência demonstrando que outros processos inflamatórios do organismo, incluindo a periodontite e a obesidade poderiam propagar esse processo (PIRES et al., 2014).

Nesse contexto, a Organização Mundial de Saúde definiu obesidade como uma doença crônica de origem multifatorial e é caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura que representa risco à saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). Dentre os fatores etiológicos destaca-se fatores genéticos e comportamentais, os quais proporcionam o acúmulo excessivo de energia sob a forma de gordura decorrente de uma dieta rica em açúcares, gorduras e carboidratos, e associada à inatividade física (SMITH, K. B.; SMITH, M. S., 2016). O método mais amplamente utilizado para mensurar obesidade é através do índice de massa corporal (IMC), no qual para ser considerado obeso o indivíduo deve ter um valor $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). Este é calculado através da divisão do peso corporal em quilogramas pelo quadrado da altura em metros.

Estudos mostram que a tendência global da obesidade continua em ascensão, embora haja variações de sexo, regiões do mundo e países. Mundialmente, a prevalência de sobrepeso e obesidade aumentou cerca de 27% para adultos e 47% para crianças entre 1980 e 2013 (NG *et al.*, 2014). Este aumento considerável na prevalência de obesidade pressupõe um aumento na carga global da doença cardiovascular (DCV), pois acredita-se que a obesidade causa uma série de fatores de risco estabelecidos para essa doença, como hipertensão, dislipidemia, diabetes tipo 2, hiperinsulinemia e aterosclerose (SMITH, K. B.; SMITH, M. S., 2016). Alguns autores têm apontado que a relação da obesidade com aterosclerose, se daria pelo processo inflamatório responsável pelo desenvolvimento e complicações de ambas as doenças (ROCHA; LIBBY, 2009). Assim uma dieta rica em gordura pode promover a disfunção endotelial, aumentar o estresse oxidativo e a aterogênese (ROCHA; LIBBY, 2009). Desse modo, a inflamação resultante desses processos pode originar formação das placas ateromatosas na túnica íntima da artéria, localizada entre o endotélio e a túnica média

(FREDIANI BRANT et al., 2014).

Assim a obesidade e a periodontite tornam-se um problema de saúde pública, pois são possíveis fatores de risco para as DCV (PIRES et al., 2014), as quais causam um impacto econômico de, aproximadamente, R\$ 7.397.958,84 por ano para o Sistema Único de Saúde no Brasil (MORAIS; PONTES; MARTINS, 2011). Desse modo é importante o controle ou prevenção da obesidade e da periodontite, a fim de prevenir as DCV.

Nesse sentido, o presente trabalho de conclusão de curso avaliará a espessura da parede de aortas de ratos submetidos a modelos de doença periodontal induzida e/ou obesidade. O presente estudo consiste em um artigo científico intitulado “Effect of Obesity and/or Ligature-Induced Periodontitis in Aortic Wall Thickness in rats” que será submetido para publicação na revista Archives of Oral Biology.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças cardiovasculares (DCV) ainda são consideradas uma condição prevalente, e causam elevadas taxas de morbidade e mortalidade no mundo. Estas são causadas por uma doença inflamatória crônica, a aterosclerose. Estudos têm sugerido que a obesidade e a periodontite (ambas doenças inflamatórias crônicas) poderiam ser fatores de risco para essa condição, e conseqüentemente para as DCV. Entretanto, existem questões éticas que impedem a realização de estudos em humanos, no que diz respeito a plausibilidade biológica do processo saúde-doença. Assim, o exato mecanismo da patogênese ainda é desconhecido. Além disso, existem poucos estudos que avaliam o efeito da periodontite e/ou da obesidade sobre aortas, a qual poderia demonstrar alterações que sugerissem o desenvolvimento de DCV.

Por estas razões, o presente estudo objetivou acrescentar, ao corpo de evidências existentes, informações sobre o impacto da doença periodontal e/ou da obesidade sobre a espessura da parede de aortas de ratos Wistar. Além disso, a hipótese nesse estudo foi que a doença periodontal poderia ser um fator de risco adicional para o desenvolvimento da aterosclerose. No modelo avaliado, os ratos que receberam a dieta de cafeteria tiveram um aumento no peso corporal e no índice de Lee. Além disso, os grupos que foram induzidos a periodontite tiveram uma média maior de perda óssea alveolar. Assim, nossos resultados demonstraram que tanto o modelo de indução de obesidade, quanto o de doença periodontal foram efetivos. Quanto ao principal desfecho deste trabalho, foram observadas maiores espessuras nos grupos com obesidade (OB e OB+DP) comparados aos grupos controle e DP. Portanto, podemos entender que o modelo de indução de obesidade parece alterar a espessura da parede das aortas. Por outro lado, a presença de doença periodontal não teve efeito sobre aquele desfecho.

Apesar do desfecho deste estudo demonstrar que a periodontite não é um fator adicional para o desenvolvimento da aterosclerose em ratos obesos, a literatura evidencia uma associação positiva entre a doença periodontal e as DCV. Tanto a obesidade, quanto a doença periodontal, são condições prevalentes na população. Assim, é de suma importância que se dê continuidade aos estudos que avaliem esta relação, e se eles teriam efeitos sinérgicos sobre as DCV, a fim de orientar as políticas de saúde pública quanto à prevenção e tratamento em todo o mundo.

REFERÊNCIAS

- CAIRO, F. et al. Markers of systemic inflammation in periodontal patients: chronic versus aggressive periodontitis. An explorative cross-sectional study. **European Journal of Oral Implantology**, v. 3, no. 2, p. 147–153, 2010.
- CULLINAN, M. P.; SEYMOUR, G. J. Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? **Periodontology 2000**, v. 62, no. 1, p. 271–286, 2013.
- FREDIANI BRANT, N. M. et al. Cardiovascular protective effects of *Casearia sylvestris* Swartz in Swiss and C57BL/6 LDLr-null mice undergoing high fat diet. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 154, no. 2, p. 419–427, 2014.
- GENCO, R. J.; BORGNAKKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 62, no. 1, p. 59–94, 2013.
- MORAIS, M. G. T.; PONTES, W. C.; MARTINS, A. S. Impacto das doenças cardiovasculares no serviço público. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CUSTOS - ABC, 18., 2011, Rio de Janeiro. **Anais...** [S. l.], 2011. Disponível em: <<https://anaiscbc.emnuvens.com.br/anais/article/view/467>>. Acesso em: 26 jul. 2017.
- NG, M. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet (London, England)**, v. 384, no. 9945, p. 766–781, 2014.
- OFFENBACHER, S. et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. **Journal of Periodontology**, v. 67, no. 10 Suppl, p. 1103–1113, 1996.
- PAQUETTE, D. W.; BRODALA, N.; NICHOLS, T. C. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection. **Periodontol 2000**, v. 44, p. 113–26, 2007.
- PIRES, J. R. et al. Framingham cardiovascular risk in patients with obesity and periodontitis. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 18, no. 1, p. 14–18, 2014.
- ROCHA, V. Z.; LIBBY, P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. **Nature Reviews. Cardiology**, v. 6, no. 6, p. 399–409, 2009.
- SLOTS, J. Periodontology: past, present, perspectives. **Periodontology 2000**, v. 62, no. 1, p. 7–19, 2013.
- SMITH, K. B.; SMITH, M. S. Obesity statistics. **Primary Care**, v. 43, no. 1, p. 121–135, 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation**. Geneva, 2000. v. 894, p. 252.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The top 10 causes of death worldwide**. Geneva, 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>>. Acesso em: 25 jun. 2017.

ANEXO - APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A Comissão Científica e a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisaram o projeto:

Projeto: 110051

Data da Versão do Projeto: 26/04/2011

Pesquisadores:

CASSIANO KUCHENBECKER ROSING

JULIANO CAVAGNI

ISABEL CRISTINA DE MACEDO

IRACI LUCENA DA SILVA TORRES

Título: IMPACTO DA SÍNDROME METABÓLICA NA PATOGÊNESE DA PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA EM RATOS WISTAR

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais.

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.