

Avaliação Morfométrica da Influência da Obesidade Sobre o Tecido Gengival de Ratos com Periodontite Experimental

Morphometric Evaluation of the Influence of Obesity on Gingival Tissue in Rats with Experimental Periodontitis

BRENDA MENDES COLTRI¹
KARINE FIGUEREDO DA COSTA²
VIVIANE PONTILLO²
MARIA LÚCIA BONFLEUR³
ROSE MEIRE COSTA BRANCALHÃO³
CELIA CRISTINA LEME BEU³
STEFANY PEDROTTI⁴
PATRICIA OEHLMEYER NASSAR⁵
CARLOS AUGUSTO NASSAR⁶

RESUMO

Objetivo: O objetivo desse trabalho foi avaliar o comportamento do tecido gengival de ratos após a indução experimental de obesidade e doença periodontal. **Material e Métodos:** Vinte e quatro ratos machos (n=24) foram divididos inicialmente em 2 grupos, que foram submetidos a injeções intradérmicas na região cervical de 4g/kg/dia de solução glutamato monossódico (MSG) (grupo OBS) e 1,25g/kg/dia de solução salina (grupo CTL), nos primeiros 5 dias de vida. Aos 70 dias foi induzida a doença periodontal com a colocação de ligadura nos dentes posteriores dos ratos, após esse procedimento 4 grupos, com 6 ratos cada, foram originados: grupo controle sem ligadura (CTL); grupo controle com ligadura (LIG); obeso sem ligadura (OBS), obeso com ligadura (OBSLIG). Aos 100 dias os ratos foram sacrificados, e a hemimandíbula direita de cada rato foi retirada para a análise morfométrica do tecido gengival. **Resultados:** A altura do epitélio da crista gengival foi significativamente ($p<0,05$) maior nos grupos com periodontite induzida (LIG 44,26±0,69; OBSLIG 43,30±1,23). A altura do tecido conjuntivo na região média mostrou-se menor nos grupos CTL (237,44±7,38) e OBS (238,17±0,73), sendo estas diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$) em relação aos demais grupos. **Conclusão:** A obesidade induzida pelo glutamato monossódico não alterou as características dos tecidos epitelial e conjuntivo da região gengival de ratos.

DESCRIPTORIOS

Doença Periodontal. Obesidade. Gengiva.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to evaluate the behavior of gingival tissue upon experimentally-induced obesity and periodontitis in rats. **Materials and Methods:** Twenty-four male Wistar rats were initially divided into 2 groups. Animals were subjected to intradermal injections of 4 g/kg/day Monosodium Glutamate (MSG) and 1.25 g/kg/day saline solution (control group, CTRL) in the cervical region for their first 5 days of life. At 70 days, the groups were subdivided into 2 other groups. A ligature placed around their 1st mandibular molars was used to induce periodontitis. Accordingly, a total of 4 groups were formed, with 6 animals each: ligature-free control group (CTRL); control group with ligature (LIG); ligature-free obese group (OBS); obese group with ligature (OBSLIG). After 100 days, animals were sacrificed and their right hemi-jaws were dissected for morphometric analysis. **Results:** The height of the gingival crest epithelium was significantly higher ($p<0.05$) in the groups with induced periodontitis (LIG 44.26±0.69; OBSLIG 43.30±1.23). The height of the connective tissue in the middle region was found to be lower in CTRL (237.44±7.38) and OBS groups (238.17±0.73), with statistically significant differences ($p<0.05$) as compared to the other groups. **Conclusion:** MSG-induced obesity did not change the characteristics of the gingival epithelium and connective tissues in rats.

DESCRIPTORS

Periodontal Disease. Obesity. Gingiva.

- 1 Acadêmica do Curso de Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.
- 2 Mestre em Odontologia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.
- 3 Professora Adjunta no Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas e Programas de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.
- 4 Mestre em Biociências e Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.
- 5 Professora Adjunta de curso de Odontologia e Programas de Pós-Graduação em Biociências, Saúde e Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.
- 6 Professor Associado de curso de Odontologia e Programas de Pós-Graduação em Biociências, Saúde e Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.

A síndrome metabólica é o nome proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo National Cholesterol Education Program (NCEP) para designar um conjunto de alterações metabólicas (dentre elas a obesidade central) que comumente se manifestam juntas e são fatores de risco para a doença coronariana. Cada componente da síndrome metabólica, por si só, aumenta o risco de doença cardiovascular, porém, quando combinado, ele se torna muito mais intenso¹.

Para compreender melhor o papel de cada um dos elementos envolvidos na fisiopatologia da obesidade, pesquisadores utilizam modelos experimentais animais, que podem determinar de maneira controlada o papel de cada um dos componentes da secreção e resistência periférica à insulina e obesidade². A grande similaridade e homologia entre os genomas de roedores e humanos tornam, esses modelos animais, uma ferramenta importante para o estudo da obesidade, de condições que afetam os humanos e podem ser simuladas em ratos³. Um modelo de obesidade, encontrado na literatura e que será usado nesta pesquisa, é a indução através da administração do glutamato monossódico que provoca lesão do núcleo hipotalâmico venteromedial, sem que o animal aumente a ingestão alimentar³.

Obesidade tem sido associada com condições médicas potencialmente fatais incluindo doenças cardiovasculares⁴, vários tipos de câncer⁵, diabetes⁶, bem como distúrbios endócrinos⁷. Estar com sobrepeso ou obesos também foi associado com um aumento do risco para doença periodontal⁸.

Diversas pesquisas científicas vêm sugerindo que a obesidade contribui efetivamente com a severidade da doença periodontal⁹⁻¹¹. A periodontite é uma doença infecciosa crônica, onde o biofilme bacteriano é responsável pelo surgimento e manutenção da doença periodontal, mas o sistema imune do hospedeiro tem importante papel, pois ele protege o hospedeiro e também participa do ataque ao mesmo¹². É causada predominantemente por bactérias que liberam endotoxinas que ativam citocinas pró-inflamatórias (IL1, TNF- α entre outras) que afetam os tecidos de suporte dos dentes e induz perda do osso alveolar, cemento e ligamento periodontal^{13,14}.

O aumento no índice de massa corporal (IMC) e cintura quadril (ICQ) têm associação com o desenvolvimento de periodontite¹⁰. Dados epidemiológicos mostram que pacientes obesos e resistentes à insulina apresentam concentrações plasmáticas elevadas de marcadores inflamatórios¹⁵. O tecido adiposo secreta grandes quantidades de TNF- α e IL-6 e a concentração dessas citocinas é proporcional

ao IMC¹³. O aumento da concentração plasmática das citocinas pró-inflamatórias poderia justificar a relação entre obesidade e doença periodontal¹⁴. A alta concentração de TNF- α pode exacerbar a doença periodontal preexistente por meio da estimulação de fibroblastos que promovem a síntese de enzimas degradantes e pela estimulação de osteoclastos que ativam a reabsorção óssea¹⁵.

No entanto, diversas pesquisas vêm sendo realizadas no sentido de investigar a relação entre a obesidade e as várias doenças crônico-degenerativas que acompanha esta epidemia. Todavia, apesar das evidências mostrando as inter-relações entre obesidade, tecido gengival e doença periodontal, a literatura é pouco conclusiva, necessitando de pesquisas neste campo científico. Tendo em vista essa possível relação causal entre obesidade e doença periodontal, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o comportamento do tecido gengival de ratos com obesidade induzida experimentalmente, através do glutamato monossódico, associada ou não a doença periodontal.

MATERIALE MÉTODOS

Animais

Animais fêmeas prenhas foram obtidas no Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus Cascavel, e mantidas no biotério setorial do Laboratório de Fisiologia Humana sob condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ$) e luz (ciclo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro – 7:00 - 19:00 h). Ao nascimento, os filhotes foram separados por sexo ficando 6 machos para cada ninhada, perfazendo um total de 24 animais, cálculo baseado em prévios estudos^{15,17,20}, esses foram desmamados com 21 dias, então, receberam dieta padrão e água à vontade por todo o período experimental. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas (CEEAAP) da UNIOESTE, com protocolo em 09/04/2013.

Indução da Obesidade

Os animais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos, com 12 ratos cada, submetidos durante os cinco primeiros dias de vida, uma injeção intradérmica na região cervical de glutamato monossódico na dose de 4g/kg de peso corporal (grupo OBS) ou 1,25 g/kg de salina (grupo CTL)¹⁶.

Indução da Doença Periodontal

Aos 70 dias de vida os animais foram anestesiados (xilazinha 0,04mL/100g e quetamina

0,08mL/100g) e posicionados em mesa operatória apropriada, a qual permitia a manutenção da abertura bucal dos ratos facilitando o acesso aos dentes da região posterior da mandíbula. Com auxílio de uma pinça modificada e de uma sonda exploradora, foi colocado um fio de algodão número 40 ao redor do primeiro molar inferior de ambos os lados¹⁷. Após este procedimento originou-se 4 grupos: controle sem ligadura (CTL), controle com ligadura (LIG), obeso sem ligadura (OBS) e obeso com ligadura (OBSLIG). Esta ligadura atuou como irritante gengival por 30 dias e favoreceu o acúmulo de biofilme bacteriano¹⁷.

Avaliação da Obesidade

Aos 100 dias os animais foram pesados e foi obtido o comprimento naso-anal para cálculo do índice de Lee [raiz cúbica do peso corporal (g) / comprimento naso-anal (cm)]. Posteriormente, após o sacrifício, as gorduras periepídídima e retroperitoniais foram retiradas pesadas e descartadas.

Eutanásia e Obtenção das amostras

Após os 100 dias do tempo total do experimento, os ratos de todos os grupos foram submetidos a um jejum de 12 horas, antes do sacrifício, sendo disponibilizado água a vontade. Os animais foram eutanasiados pelo método de decapitação por guilhotina. Após a eutanásia, amostras dos tecidos periodontais, da hemimandíbula do lado direito destinadas aos estudos morfológicos foram reduzidas e pré-fixadas em metacarn (70% metanol, 20% clorofórmio e de 10% ácido acético glacial) com gotejamento constante, durante a redução.

Processamento Histológico

As hemimandíbulas do lado direito foram descalcificadas com ácido tricloroacético (TCA) 5% por

27 dias. As peças foram avaliadas para verificar o grau de descalcificação esperado, a cada 5 dias e o TCA era trocado. Após a descalcificação, os tecidos foram imersos em sulfato de sódio 5% durante aproximadamente 2 horas para neutralizar o TCA, lavados em água de torneira por 2 horas e mantidos em álcool 70% até o processamento histológico para inclusão em parafina. Os fragmentos das hemimandíbulas foram desidratados em série alcoólica ascendente, diafanizados em xilol e incluída em parafina (Purified Paraffin, code 1228, lot 1008459, *Vetec Química Fina*, Rio de Janeiro, Brasil).

Cortes Histológicos

Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo manual (Olympus, CUT 4055 - Charleston, Carolina do Sul, EUA) para obtenção de cortes de 7µm de espessura. Estes foram utilizados para montagem de lâminas histológicas e coradas pela técnica Hematoxilina e Eosina (HE). Após a obtenção das lâminas histológicas, as imagens foram capturadas através de um microscópio acoplado a um computador, através do programa software Laz Ez® (Sistema de contagem e captura LAS V4.2, Leica microsystems).

Morfologia da Gengiva

As medidas morfométricas foram feitas nas gengivas marginais vestibular e lingual²⁰ da hemimandíbula do lado direito de todos os grupos, utilizando-se um programa analisador de imagens²⁰, acoplado a um microscópio de luz (Leica Microsystems, Suíça) com objetiva de 10x, aumento de 100x, a intervalos de 10 cortes entre uma contagem e outra no seriamento dos cortes (cerca de 70 µm). As mensurações foram feitas a partir de pontos morfológicos pré-determinados na gengiva marginal, como ilustrado na Figura 1, utilizando um programa analisador de imagens Image

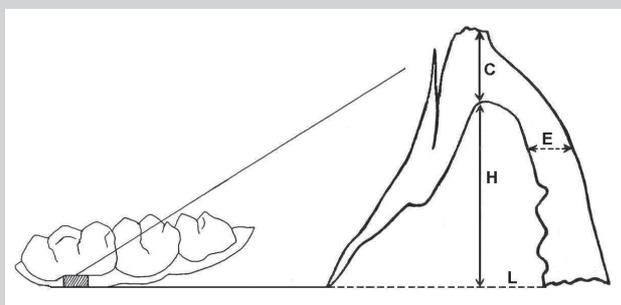


Fig. 1 – Esquema da gengiva marginal do rato, mostrando os pontos de referência usados para as medidas morfométricas do epitélio bucal, crista epitelial e tecido conjuntivo.

C – altura do epitélio da crista gengival

E – largura do epitélio bucal

H – altura do tecido conjuntivo na região média

L – largura do tecido conjuntivo na região basal

Tools 3.0 (University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA), sendo que as medidas foram repetidas uma vez por dia, em dois dias diferentes, e então foi feita a média entre os valores.

Para a análise estatística, todos os valores numéricos foram expressos como média \pm desvio padrão. Em um primeiro momento, através do programa Bioestat 5.3 (Instituto Mamiraua, Amazonas, Brasil), foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para avaliar a distribuição de normalidade dos dados. Após a verificação da normalidade dos dados, foram realizados o teste ANOVA e consequentemente o teste Tukey com $p < 0,05$ para avaliar a diferença entre os grupos.

RESULTADOS

Efeito no desenvolvimento da obesidade em ratos com e sem periodontite induzida

A administração de MSG provocou um aumento no índice de Lee quando comparados grupos tratados com não-tratados ($p < 0,05$), essa diferença não foi observada quando comparados os grupos obesos entre si ($p > 0,05$). Os animais tratados com MSG neonatal apresentam uma diminuição significativa no peso de ratos ($p < 0,05$), demonstrado na Tabela 1.

A tabela 2 demonstra que a altura do epitélio da crista gengival foi significativamente maior nos grupos com periodontite induzida. Da mesma forma, houve diferença significativa em relação à largura do epitélio bucal, que para os grupos com periodontite induzida. A altura do tecido conjuntivo na região média, nos ratos com ligadura, mostrou um aumento em relação aos grupos CTL e OBS, sendo estas diferenças estatisticamente significativas. Do mesmo modo, os grupos LIG e OBSLIG revelaram um aumento na largura do tecido conjuntivo na região basal quando comparado com os demais grupos.

DISCUSSÃO

O tratamento neonatal com MSG induz a obesidade através de lesão de células neurais do núcleo arqueado e eminência média do hipotálamo^{15,16}. A administração de MSG provocou aumento no índice de Lee dos grupos obesos (Tabela 1), com diferença significativa entre os grupos tratados, mas não houve diferença entre os grupos de MSG, essa variável fica

evidente nesse modelo de obesidade devido a este tratamento poder resultar em numerosas anormalidades endócrinas e comportamentais, tais como perturbações do crescimento, produção de glicocorticóides, obesidade e hipogonadismo¹⁸. Entretanto o menor peso útil dos ratos tratados com MSG, também demonstrado na Tabela 1, provavelmente pode ser atribuído ao menor tamanho desses animais, uma vez que entre as alterações endócrinas descritas nesse modelo está a menor secreção de hormônio de crescimento¹⁹.

Os ratos têm sido amplamente utilizados para estudar os efeitos de drogas na gengiva, e o crescimento gengival é semelhante ao dos humanos. A utilização deste modelo tem permitido o controle rigoroso de algumas variáveis importantes, tais como predisposição genética, idade, dose e via de administração de drogas, por consequência a resposta em ratos é mais uniforme do que nos seres humanos²⁰.

Os resultados desse estudo (Tabela 2), não demonstraram uma associação entre o efeito da obesidade e o crescimento gengival, uma vez que somente os grupos com periodontite induzida apresentaram crescimento gengival, o que efetivamente pode ser atribuído à presença da doença periodontal experimentalmente instalada. Entretanto, estudos de acompanhamento randomizados^{8,10,11} confirmaram a associação da obesidade com condição periodontal e os níveis e proporções de certas espécies microbianas subgengivais, o significado de tal associação não é claro. A explicação mais provável seria de que uma mudança nos tecidos periodontais, devido a alterações metabólicas associadas com a obesidade, poderia de alguma forma afetar os padrões de colonização microbiana subgengival⁸, alterando a extensão e a progressão da doença periodontal. As diferenças entre indivíduos obesos e não-obesos nos padrões alimentares, estilo de vida, procedimentos de cuidados a domicílio, hábitos orais e de fundo genético pode ser a “razão direta” para os seus maiores níveis de doença periodontal. No entanto, o reconhecimento de uma associação entre a obesidade, doença periodontal e aumento da colonização pelo patógeno periodontal *Tannerella. forsythia* pode ser o primeiro passo na tentativa de desvendar o mecanismo(s) biológico subjacente a esta associação⁸.

Os resultados de nosso estudo não demonstraram diferenças em tecido gengival de ratos obesos e saudáveis. Atualmente, o mecanismo para esclarecer a relação entre obesidade e o crescimento

Tabela 1. Efeito do tratamento neonatal com MSG sobre parâmetros corporais dos ratos CTL, LIG, OBS e OBSLIG. Os valores representam média \pm desvio padrão.

	CTL	LIG	OBS	OBSLIG
Índice de Lee (g/cm)	0,327 \pm 0,001A	0,355 \pm 0,001B	0,366 \pm 0,002C	0,369 \pm 0,002C
Peso final dos animais (g)	385,57 \pm 29,28A	356,14 \pm 17,07A	251,81 \pm 61,83B	223,16 \pm 23,68B

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os grupos, dentro do mesmo parâmetro

Tabela 2. Análise histomorfométrica da gengiva da hemimandíbula direita dos ratos dos grupos CTL, LIG, OBS e OBSLIG. Os valores representam média \pm desvio padrão e estão expressos em pixels.

	C	E	H	L
CTL	39,49 \pm 0,82 A	27,81 \pm 0,68A	237,44 \pm 7,38 A	97,47 \pm 3,53 A
LIG	44,26 \pm 0,69 B	30,21 \pm 1,25B	284,95 \pm 6,82B	128,70 \pm 2,82B
OBS	40,01 \pm 1,32 A	27,43 \pm 0,73A	238,17 \pm 0,73A	102,07 \pm 4,38A
OBSLIG	43,30 \pm 1,23 B	30,49 \pm 0,78B	282,27 \pm 7,89B	128,67 \pm 4,33B

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os grupos, dentro do mesmo parâmetro

gengival é pouquíssimo estudado. Um estudo²¹ analisou a expressão de defensinas humanas beta (HBD) como um mecanismo possível, através do qual o inato sistema imunológico afeta a suscetibilidade para periodontite em indivíduos obesos, entretanto o estudo não revelou diferenças na expressão de defensinas humanas beta -1 e -2 (HBD-1e HBD-2) entre obesos e participantes com peso normal. Neste estudo²¹, a expressão de HBD-2 não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com periodontite do que indivíduos adultos saudáveis. A indução dessas respostas não era mediada por lipopolissacarídeos, que propõem que a regulação da indução destes mediadores da imunidade inata na mucosa oral é controlada por mecanismos mais complexos do sistema imune inato.

Ainda nos grupos com periodontite induzida, em nosso estudo, a altura e espessura gengival se mostraram maiores estatisticamente significativas, caracterizando desta forma não somente alterações histopatológicas, mas também um aumento de volume gengival, típico na presença de periodontite, provavelmente devido à existência do biofilme bacteriano (Tabela 2). Baseado nestes resultados,

podemos afirmar que o modelo deste estudo cumpriu com os requisitos experimentais de periodontite.

A infecção periodontal pode promover um efeito negativo sobre o estado de saúde sistêmica do organismo. A periodontite está associada com doenças sistêmicas, tais como: doença cardíaca coronária, doença cerebrovascular, diabetes, doença pulmonar obstrutiva crônica e a disfunção endotelial, sendo esta última a ligação fisiopatológica entre a doença periodontal e a disfunção erétil^{22,23}.

Os resultados do presente estudo não demonstraram ação dos efeitos da obesidade sobre o tecido gengival dos ratos, entretanto estudos de longo prazo são necessários para esclarecer os possíveis mecanismos celulares e moleculares envolvidos nos efeitos da obesidade sobre a gengiva.

CONCLUSÃO

Dentro dos limites do nosso estudo, podemos concluir que a obesidade induzida pelo glutamato monossódico não alterou as características dos tecidos epitelial e conjuntivo da região gengival de ratos.

REFERÊNCIAS

- Borges PKO, Gimeno SGA, Tomita NE, Ferreira SR, JAPANESE-BRAZILIANS DIABETES STUDY GROUP. Prevalência e características associadas à síndrome metabólica em nipo-brasileiros com e sem doença periodontal. *Cad. Saúde Pública*. 2007; 23(1):657-68.
- Cesaretti ML, Kohlmann Junior O. experimental models of insulin resistance and obesity: lessons learned. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2006; 50(2):190-7.
- Diemen VV, Trindade EM, Trindade MRM. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cir. Bras.* 2006;21(6):425-9.
- Wilson PW, Bozeman SR, Burton TM, Hoaglin DC, Ben-Joseph R, Pashos CL. Prediction of first events of coronary heart disease and stroke with consideration of adiposity. *Circulation*. 2008;118(2):124-30.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *New Eng J Med*. 2003; 348 (17):1625-38.
- Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, Marks JS. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors. *J. Am. Med. Assoc.* 2003; 289(1):76-9.
- Van Der Steeg JW, Steures P, Eijkemans MJ, Habbema JD, Hompes PG, Burgraaff JM, Oosterhuis GJ, Bossuyt PM, van der Veen F, Mol BW. Obesity affects spontaneous pregnancy changes in subfertile, ovulatory women. *Human Reprod.* 2008; 23(2):324-8.
- Haffajee AD, Socranski SS. Relation of body mass index, periodontitis and tannerella forsythia. *J. Clin. Periodontol.* 2008; 36(2):89-99.
- Perlestein MI, Bissada NF. Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. Endod.* 1977;43(5):707-19.
- Saito T, Murakami M, Shimazaki Y, Oobayashi K, Matsumoto S, Koga T. Association between alveolar bone loss and elevated serum C-reactive protein in Japanese men. *J. Periodontol.* 2003; 74(12):1741-6.
- Al-Zahrani MS, Bissada NF, Borawski EA. Obesity and periodontal disease in young, middle-age, and older adults. *J. Periodontol.* 2003; 74(5):610-5.
- Becerik S, Afacan B, Öztürk VO, Atmaca H, Emingil G. Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases. *IOS Press*. 2011; 31(6): 342-52.
- Orban Z, Remaley AT, Sampson M, Trajanoski Z, Chrousos GP. The differential effect of food intake and beta-adrenergic stimulation on adipose-derived hormones and cytokines in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; 84(6):2126-33.
- Bastos AA, Falcão CB, Pereira ALA, Pereira AFV. Obesidade e doença periodontal. *Pesq. Bras. Odontop. Clin. Integ.* 2005; 5(3):275-9.
- Brandelero JR. S, Bonfleur ML, Ribeiro RA, Vanzela, EC, Nassar CA, Nassar PO, Balbo SL. Decreased TNF- α gene expression in periodontal ligature in MSG obese rats: A possible protective effect of hypothalamic obesity against periodontal disease? *Arch. Oral Biol.* 2012; 57(3):300-6.
- Balbo SL, Grassioli S, Ribeiro RA, Bonfleur ML, Gravena C, Brito MM, Andreazzi AE, Mathias PCF, Torrezan R. Fat storage is partially dependent on vagal activity and insulin secretion of hypothalamic obese rat. *Endocrine* 2007; 31(2):142-8.
- Nassar PO, Nassar CA, Guimarães MR, Aquino SG, Andia DC, Muscara MN, Spolidorio DM, Rossa C Jr, Spolidorio LC. Simvastatin therapy in cyclosporine a-induced alveolar bone loss in rats. *J. Periodontal Res.* 2009; 44(4):479-88.
- Cunha NV, Abreu AS, Panis C, Grassioli S, Guarnier FA, Cecchini, R, Mazzuco, TL, Pinge-Filho P, Martins-Pinge MC. Cox-2 inhibition attenuates cardiovascular and inflammatory aspects in monosodium glutamate-induced obese rats. *Life Sciences* 2010; 87(11-12):375-81.
- Violtera AF, Cesaretti MLR, Ginoza M, Kohlmann Jr O. Efeito da indução da obesidade neuroendócrina sobre a hemodinâmica sistêmica e a função ventricular esquerda de ratos normotensos. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2008; 52(1): 47-54.
- Nassar CA, Nassar PO, Andia DC, Guimarães MR, Spolidorio LC. The effects of up to 240 days of tacrolimus therapy on the gingival tissues of rats—a morphological evaluation. *Oral Dis.* 2008; 14(1):67-72.
- Al-Zahrani MS, Zawaw KH, Altaf FM. The effect of obesity and periodontitis on the expression of antimicrobial peptides in gingival tissues. *Saudi Med. J.* 2013; 34(5):525-30.
- Aversa A, Bruzziches R, Francomano D, Natali M, Gareri P, Spera G. Endothelial dysfunction and erectile dysfunction in the aging man. *Int. J. Urol.* 2010; 17(1):38-47.
- Gulati M, Anand V, Jain N, Anand B, Bahuguna R, Govila V, Rastogi P. Essentials of periodontal medicine in preventive medicine. *Int. J. Prev. Med.* 2013; 4(9):988-94.

Correspondência

Carlos Augusto Nassar,
 Curso de Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE
 Rua Pernambuco, 593 – apto 504 – Centro – Cascavel – Paraná – Brasil CEP 85810-020
 e-mail: canassar@yahoo.com