



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

ROSIMARY DE SOUSA CARVALHO

EFEITOS DA VENLAFAXINA E DA VITAMINA *E*
NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL INDUZIDA
POR LIGADURA EM RATOS. AVALIAÇÃO DO
ESTADO DE ANSIEDADE, DEPRESSÃO E PERDA
ÓSSEA ALVEOLAR

FORTALEZA

2010

ROSIMARY DE SOUSA CARVALHO

**EFEITOS DA VENLAFAXINA E DA VITAMINA *E*
NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL INDUZIDA
POR LIGADURA EM RATOS. AVALIAÇÃO DO
ESTADO DE ANSIEDADE, DEPRESSÃO E PERDA
ÓSSEA ALVEOLAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Geanne Matos de Andrade

FORTALEZA

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca de Ciências da Saúde
da Universidade Federal do Ceará

©reprodução autorizada pelo autor

C327e Carvalho, Rosimary de Sousa

Efeitos da venlafaxina e da vitamina E na periodontite experimental induzida por ligadura em ratos. Avaliação do estado de ansiedade, depressão e perda óssea alveolar/ Rosimary de Sousa Carvalho. – Fortaleza, 2010.

133 f.: il.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Geanne Matos de Andrade.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza-CE, 2010.

1. Periodontite. 2. Antidepressivos. 3. Vitamina E
4. Depressão. 5. Ansiedade. I. Andrade, Geanne Matos de
(orient.) II. Título.

CDD 617.632

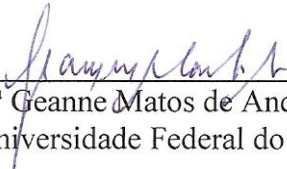
ROSIMARY DE SOUSA CARVALHO

**EFEITOS DA VENLAFAXINA E DA VITAMINA E NA
PERIODONTITE EXPERIMENTAL INDUZIDA POR LIGADURA
EM RATOS. AVALIAÇÃO DO ESTADO DE ANSIEDADE,
DEPRESSÃO E PERDA ÓSSEA ALVEOLAR**

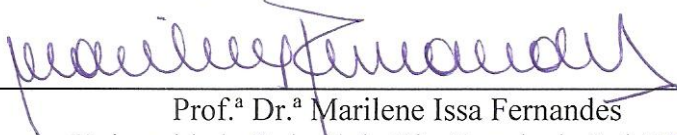
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor.

Aprovada em: **09/07/2010**


BANCA EXAMINADORA




Prof.^a Dr.^a Geanne Matos de Andrade (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará-UFC



Prof.^a Dr.^a Marilene Issa Fernandes
Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRS



Prof.^a Dr.^a Izaira Maria Bruno Figueiredo
Universidade de Fortaleza-UNIFOR



Prof.^a Dr.^a Gerly Anne de Castro Brito
Universidade Federal do Ceará-UFC



Prof. Dr. Sergio Araújo Holanda Pinto
Universidade Federal do Ceará-UFC

A Deus pelo presente de ter uma mãe que dedica a sua vida em favor da formação dos seus filhos.

A Tarciano Roberto de Carvalho, por ter plantado esta semente me motivando a cursar o doutorado.

Ao Professor Doutor Rui Vicente Oppermann, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, o meu eterno reconhecimento e gratidão por tudo.

Às amigas gaúchas Cleusa Farias Londero e Marilene Issa Fernandes, pelo acolhimento incondicional e amizade e à Vicência, companheira de todas às horas (até de laboratório, nos feriados e domingos), o meu reconhecimento.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial ao Professor Doutor Manoel Sant’Ana Filho, a Isabel da Silva Lauxen, a toda “gurizada” da biblioteca e aos colegas, pelas orientações e convívio.

Aos Professores Doutores Manoel Odorico Moraes Filho, Belmino Romero e José Júlio Costa Sidrim pelo apoio e orientações ao iniciar este curso.

Ao Mestre Ricardo Martins e à Doutora Mônica Studart, (colegas de disciplina), que souberam entender o tamanho do desafio de cursar um doutorado, nesse período da vida.

Às Professoras Doutoras Vilma Lima, por sua dedicação ao ensino e à pesquisa, e por esclarecer minhas dúvidas e a Izaira Bruno, pelas primeiras lições de farmacologia.

À Conceição Weyne, fonoaudióloga, a Zilmar Costa, professora de informática, e a Malu Neves, minha professora de inglês, que, com paciência, alegria e dedicação, me acalmaram desde o início desta proposta.

À Professora Doutora Mônica do Vale e Luis Scaffa, que me confortaram com palavras, e muito carinho.

Aos professores do Departamento de Clínica Odontológica, em especial ao Professor Doutor Manassés Fonteles, ao Mestre João Antônio Furtado e a Doutora Eneide Leitão, a minha amizade e gratidão.

À Ivone Mary Fontenele de Sousa, secretária do Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas e à Aura Rhanes Nogueira Yida, secretária do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, pela maneira gentil com que me trataram durante todo esse período.

Às funcionárias Zuíla e Marta, do Departamento de Clínica Odontológica do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará; Teresa Ester e José Ribamar Sampaio, da Coordenação do Curso de Odontologia, e Adil da Pró-Reitoria de Pós-Graduação da Universidade Federal do Ceará, por saber que vocês sempre torceram por mim.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Geanne Matos de Andrade, pela generosa acolhida em seu laboratório, pelas horas de estudos dedicados à ciência e pelo desafio de me orientar.

Ao Professor Doutor Vietla S. Rao, por haver respondido prontamente aos meus questionamentos.

À Professora Doutora Gerly Anne de Castro Brito, pela disposição em me aceitar inicialmente como orientada e pelos ensinamentos constantes.

Às Professoras Doutoras Renata Leitão, do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará, e Mariana Vale, do Departamento de Farmacologia e Fisiologia Universidade Federal do Ceará, e ao Doutor Roberto Pereira, pela valiosa contribuição.

À Carol, companheira de doutorado, por sua enorme dedicação e vontade de colaborar com todos.

À Cirurgiã-dentista Lívia Maria Sales Pinto e ao Professor Doutor Sérgio Araújo Holanda Pinto pelas horas dedicadas a este estudo.

À Professora Doutora Ana Paula Nunes pela amizade e por sua disposição em colaborar nesta minha jornada.

Ao Professor Doutor Naidu Talapala, pela amizade e ensinamentos.

À Maria Vilanir, do Laboratório de Neurofarmacologia, do Departamento de Farmacologia e Fisiologia, e ao Sr. Ivan Rodrigues de Sousa, do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará, pela atenção e ajuda nos testes laboratoriais e cortes histológicos das lâminas.

Aos doutorandos, mestrandos e bolsistas do Laboratório de Neurociências e Comportamento, do Departamento de Farmacologia e Fisiologia, da Universidade Federal do Ceará, especialmente à Julliana Catarina, Analu Fonteles, Flávio Maia, e aos do Laboratório de

Produtos Naturais, em especial à Marjorie por dedicarem momentos importantes na elaboração de testes para este estudo. À Daniele Teixeira e Diego Fernandes pela amizade.

Às bibliotecárias Rosane Maria Costa e Norma de Carvalho Linhares, da Biblioteca de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, pelas normas técnicas utilizadas na edição das referências bibliográficas e orientações na busca dos artigos científicos e a Leida Costa Mello, pelo seu valioso auxílio na formatação desta tese.

À CAPES, pela concessão da bolsa no início deste estudo.

RESUMO

A doença periodontal (DP) é descrita como enfermidade inflamatório-imunológica de natureza multifatorial, resultante da interação de microorganismos patogênicos e defesa do hospedeiro, cujo desenvolvimento pode ser modificado por fatores locais, doenças sistêmicas ou fatores genéticos. Eventos psicossociais como o estresse, ansiedade e depressão, citam-se como fatores que podem contribuir para o agravamento do prognóstico clínico de várias doenças, inclusive a periodontite crônica (PC), por causar desequilíbrio imunológico, podendo diretamente aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias. Estresse oxidativo (EO) também é relacionado à DP e à depressão, por causar danos às estruturas celulares, além de comprometer a competência imunológica. Este estudo avaliou os efeitos da venlafaxina, um antidepressivo, e da vitamina E, um antioxidante, na periodontite experimental induzida por ligadura em ratos (PE). Observaram-se o estado de ansiedade, depressão e a perda óssea alveolar (POA). Foram utilizados Ratos Wistar (180-220g). Os animais foram divididos em dez grupos: falso-operado (FO); EP (veículo-água); FO e PE + venlafaxina (10 mg/kg e 50 mg/kg); FO e PE (veículo-óleo); FO e PE + vitamina E 500 mg/kg. A PE foi induzida pela inserção de um fio de sutura de náilon 3.0, em torno do segundo molar superior esquerdo, o qual permaneceu por 11 dias. A venlafaxina (10 e 50 mg/kg) e a vitamina E (500 mg/kg) foram administradas diariamente, por via oral, gavagem) durante nove dias. A avaliação comportamental foi realizada no 10º dia da indução da PE pelos testes de labirinto em cruz elevado (ansiedade) e do nado forçado (depressão). Os animais foram mortos por deslocamento cervical no 11º dia da indução da PE e suas maxilas removidas, para avaliações posteriores. A análise morfométrica mostrou que os animais submetidos à PE tiveram POA significativa ($p < 0,001$) comparado aos falso-operados (FO). A venlafaxina (10 mg/kg) diminuiu a POA, mas não estatisticamente significativa, por outro lado, verificou-se maior POA no grupo de animais submetidos à PE e tratados com venlafaxina (50 mg/kg). A análise histopatológica mostrou no grupo submetido à PE e tratado com veículo (água) infiltração mononuclear acentuada (linfócitos e macrófagos) reabsorção do processo alveolar (restando apenas fragmento ósseo) e destruição do cimento, escore 2 (2-3). O grupo submetido à PE e tratado com venlafaxina (10 mg/kg) mostrou também alteração do osso alveolar e cimento, escore 2 (1-3), entretanto, não houve diferença estatística. O grupo FO apresentou pequeno infiltrado inflamatório, escore 0 (0-0). Estresse oxidativo também foi objeto de estudo nesta pesquisa. A peroxidação lipídica (TBARS) mostrou-se aumentada no grupo de animais submetido à PE. A venlafaxina (10 mg/kg) inibiu esse aumento, demonstrando papel antioxidante. Foram realizados ensaios de imuno-histoquímica (TNF- α e iNOS) nos tecidos gengival e periodontal dos animais. Observou-se aumento da imunomarcacão de ambos nos tecidos periodontais dos animais submetidos à PE, comparado ao grupo FO. O tratamento com venlafaxina não inibiu essa marcação. Os resultados envolvendo o tratamento com a vitamina E (500 mg/kg) mostraram na análise morfométrica das maxilas dos animais submetidos à PE e tratados com vitamina E que não houve proteção quanto a POA, quando comparado ao grupo submetido à PE ($p > 0,05$). A análise histopatológica mostrou infiltrado mononuclear menos acentuado no grupo submetido à PE e tratado com vitamina E, escore 2 (0-3) comparado ao grupo PE, 3 (2-3). A avaliação oxidativa foi observada mediante mensuração da peroxidação lipídica (TBARS) e da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Os animais submetidos à PE apresentaram aumento significativo na concentração de MDA (μM). O tratamento com vitamina E (500 mg/kg) inibiu esse efeito ($p < 0,05$). Em relação à SOD, observou-se um decréscimo da atividade nos animais submetidos à PE e tratados com vitamina E. A avaliação para TNF- α e iNOS mostrou que a PE aumentou a imunomarcacão de ambos; o tratamento com vitamina E diminuiu a imunomarcacão para iNOS. A avaliação comportamental mostrou que a PE não estava associada a ansiedade ou depressão. Nos animais submetidos à PE houve perda de massa corpórea nos primeiros dias da indução da PE. Os tratamentos com venlafaxina e vitamina E não alteraram esse resultado. A venlafaxina e a vitamina E não foram capazes de inibir a POA. Além disso, a venlafaxina (IRSNs) é suscetível de agravar a POA na PE, quando usada em dose mais elevada. Atenção, também, deve ser dada para o uso indiscriminado de antioxidantes. O uso de vitamina E demonstrou efeito ansiogênico.

Palavras-chave: Periodontite Experimental. Antidepressivos. Vitamina E. Ansiedade. Depressão.

ABSTRACT

The periodontal disease is described as an inflammatory/immunological disease of multifactorial nature that results from an interaction between pathogenic microorganisms and host defense, whose development can be modified by local factors, systemic diseases or genetic factors. Psychosocial events such as stress, anxiety and depression, are few factors which can contribute for the aggravation of the clinical prognostic of many illnesses, including the chronic periodontitis, once it causes an immunological disequilibrium, being able to increase directly the production of proinflammatory cytokines. Oxidative stress has also been related to PD and depression, because of the damages caused to the cellular structures and for compromising the immunological competence. In order to have a greater insight, the present study evaluated the effects of venlafaxine, an antidepressant, and of vitamin E, a known antioxidant, in rat model of ligature-induced experimental periodontitis (EP). The state of anxiety, depression and alveolar bone loss were assessed. Wistar Rats (180-220g) were divided into ten groups: false-operated (SO); EP (vehicle-water); SO and EP + venlafaxine (10 mg/kg e 50 mg/kg); SO and EP (vehicle-oil); SO and EP + vitamin E (500 mg/kg). EP was induced by the insertion of a nylon wire 3.0, around the second upper left molar which remained there for 11 days. Venlafaxine (10 and 50 mg/kg) and vitamin E (500 mg/kg) were administered daily, orally, during 9 days. The behavioral evaluation was made in the 10th day of EP induction by tests of labyrinth in high cross (anxiety) and of immobility in forced swim (depression). The animals were killed by cervical dislocation on day-11 and their jaws removed, for later evaluations. The morphometric analysis showed that the animals submitted to the EP had significant alveolar bone loss (ABL, $p < 0.001$) when compared to the false-operated ones (SO). Venlafaxine (10 mg/kg) attenuated ABL, but it was not statistically significant; on the other hand, it was observed a greater ABL in the group of animals submitted to EP and treated with venlafaxine (50 mg/kg). The histopathological analysis showed in the group submitted to the EP and treated with vehicle (water), significant mononuclear infiltrate (lymphocytes and macrophages), reabsorption of alveolar process (with only bone fragment left) and cement destruction score of 2 (2-3). The group submitted to the EP and treated with venlafaxine (10 mg/kg) also showed similar alterations of the alveolar bone and cementum, with a score of 2 (1-3), otherwise there was no statistical difference. The group SO showed a small or negligible inflammatory infiltrate, score 0 (0-0). Oxidative stress was also the object of evaluation in this study. Increased lipid peroxidation (TBARS) was evident in the group submitted to EP. Venlafaxine (10 mg/kg) reverted it, showing an antioxidant role. Immuno-histochemical tests were performed (TNF- α and iNOS) in the gingival and periodontal tissues of the animals revealed an increased immunoreactivity scores in the group of animals submitted to EP, compared to SO group. Venlafaxine treatment did not reduce these scores. Morphometric analysis of the jaws from EP rats treated with vitamin E (500mg/kg) showed no protection from ABL, when compared to EP controls. The histopathological analysis showed less mononuclear infiltrate in the group submitted to the EP and treated with vitamin E, score 2(0-3) when compared with the group EP, 3 (2-3). The oxidant stress evaluation through the measurement of lipid peroxidation (TBARS) and the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) showed a significant increase in the concentration of MDA (μM) as well as SOD in animals on EP. Treatment with vitamin E (500 mg/kg) prevented the lipid peroxidation ($p < 0.05$), and also showed a small decrease in SOD activity. The evaluation for TNF- α and iNOS immunoreactivities, EP rats showed an increased immunoreactivity scores for both TNF- α and iNOS, treatment with vitamin E reduced the immunoscores for iNOS only. The behavioral evaluation demonstrated that EP was not associated with anxiety or depression. As regards to body weight changes, rats on EP gained less body weights in the first days of induction of EP. Venlafaxine and vitamin E treatments did not change these results. These data allow us to conclude that venlafaxine as well as vitamin E treatments do not prevent ABL. Venlafaxine (IRSNs) is susceptible to exacerbate the ABL in EP when used in high dose. Attention should also be given to the indiscriminate use of antioxidants. The use of vitamin E showed anxiogenic effect.

Key words: Experimental Periodontitis. Antidepressants. Vitamin E. Anxiety. Depression.

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitros
μM	Micromolar
°C	Grau Celsius
5-HT	Serotonina (5-hidroxi-indol-ácido)
ABL	Alveolar bone loss
ADTs	Antidepressivos tricíclicos
DP	Doença periodontal
EO	Estresse oxidativo
EP	Periodontite experimental
EPM	Erro-padrão da média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FO	Falso-operado
g	Gramas
HE	Hematoxilina e eosina
IL	Interleucina
IMAO	Inibidores da monoamino oxidase
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IPO	Índice de perda óssea
IRSNs	Inibidores seletivos da recaptação da serotonina e noradrenalina
ISRSs	Inibidores seletivos da recaptação da serotonina
kg	Kilograma
LAFICA	Laboratório da inflamação e do câncer
LCE	Labirinto em cruz elevado

MDA	Malonaldeído
mg	Miligrama
mm	Milímetro
NA	Noradrenalina
NO	Óxido nítrico
OH•	Radical hidroxila
PC	Periodontite crônica
PD	Doença periodontal
PE	Periodontite experimental induzida por ligadura
PGS	Postaglandinas
POA	Perda óssea alveolar
RL	Radicais livres
RPM	Rotação por minuto
SNC	Sistema nervoso central
SO	Falso operado
SOD	Enzima superóxido-dismutase
TBARS	Substâncias acidorreativas tiobarbitúricas
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UFC	Universidade Federal do Ceará
UI	Unidade internacional
VENLA	Venlafaxina
VIT E	Vitamina E

LISTA DE FIGURAS

1	Estrutura química da venlafaxina: 1-2-dimetilamino-1-4-metoxifeniletíl-ciclo-hexano. Fórmula molecular C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	41
2	Estrutura da vitamina E: estrutura molecular dos tocoferóis.....	44
3	Estrutura da vitamina E: estrutura molecular dos tocotrienóis.....	44
4	(A) Fotografia do dente humano com suas estruturas, fonte: Fiorellini, Kim; Ishikawa (2007); (B) Fotomicrografia do periodonto de dente de rato. G: (gengiva); PA: (processo alveolar); LP: (ligamento periodontal); C: (cimento).	51
5	Fotografias da indução da PE. (A) Guia; (B) Passagem do fio de náilon; (C) Nó cirúrgico.....	59
6	Fotografia do aparelho labirinto em cruz elevado – LCE.....	60
7	Fotografia do teste do nado forçado.....	61
8	Índice de Perda Óssea – IPO.....	63
9	Aspecto macroscópico de maxilas de ratos submetidos à PE e tratados com venlafaxina. (A) FO; (B) PE; (C) PE + venlafaxina 10 mg/kg; (D) PE + venlafaxina 50 mg/kg. A venlafaxina foi administrada (v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e, após essa, diariamente durante nove dias. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). SD (superior direita), SE (superior esquerda).....	72
10	Fotomicrografias do periodonto de ratos. Região entre o primeiro e segundo molares, 11º dia da indução da PE (n= 5-6). (A) FO: infiltrado celular inflamatório discreto, processo alveolar e cimento preservados, mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP), processo alveolar (PA), cimento (C); (B) mostrando infiltração celular monolinfocitária acentuada, destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo (seta); PE + venlafaxina (10 mg/kg), observando infiltração celular acentuada, destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo (C, seta). Aumento de 40x. Barra escala 100µm.....	76
11	Imunomarcção para TNF- α (A – F) e iNOS (G – L) nos tecidos gengival e periodontal de ratos, entre a região do primeiro e segundo molares superiores (n= 3-4). Os animais foram tratados com venlafaxina (10 mg/kg, v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. (A) Maxila normal mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP) e dentina (D) FO + venlafaxina 10 (A, D, G e J); PE (B, E, H e K); PE + venlafaxina 10 (C, F, I e L). Aumento: 100x (A, B, C, G, H, I); 400x (D, E, F, G, J, K, L).....	78

- 12** Aspecto macroscópico de maxilas de ratos submetidos à DPE e tratados com vitamina E: **(A)** FO + óleo; **(B)** PE + óleo; **(C)** FO + vitamina E; **(D)** PE + vitamina E. A vitamina E (500 mg/kg, v.o, gavagem) foi administrada uma hora antes da indução da PE e, após essa, diariamente durante nove dias. SD (superior direita); SE (superior esquerda)..... 87
- 13** Fotomicrografias do periodonto de ratos. Região entre o primeiro e segundo molares. FO **(A)**: infiltração celular discreta, processo alveolar e cemento preservados; mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP), processo alveolar (PA), cemento (C); PE **(B)**: infiltração celular monolinfocitária acentuada, destruição do processo alveolar; PE + vitamina E; **(C)** infiltração celular moderada, reabsorção do processo alveolar. Aumento 40x. Barra escala 100µm..... 91
- 14** Imunomarcção para TNF- α **(A – F)** e iNOS **(G – L)** nos tecidos gengival e periodontal de ratos submetidos à PE, entre a região do primeiro e segundo molares superiores (n = 3-4). Os animais foram tratados com vitamina E (500 mg/kg, v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante 9 dias. Maxila normal mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP) e dentina (D) **(A)** FO **(A, D, G e J)**; PE **(B, E, H e K)**; PE + Vitamina E **(C, F, I e L)**. Aumento: 100x **(A, B, C, G, H, I)**; 400x **(D, E, F, J, K, L)**..... 93

LISTA DE GRÁFICOS

- 1 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado depressivo na PE. Os animais foram tratados com venlafaxina (10 e 50 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. Os grupos controles FO e PE foram tratados com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM ($p > 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey)..... 70
- 2 Efeito do tratamento com venlafaxina (venla) sobre o IPO. Os animais foram tratados com venlafaxina (venla 10 mg/kg e 50 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes e durante nove dias, consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM *vs FO ($p < 0,001$, ANOVA, Teste de Tukey), **vs PE (teste t de Student)..... 74
- 3 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estresse oxidativo na PE. Os animais foram tratados com venlafaxina (venla 10 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes e durante nove dias, consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM da concentração de malonaldeído (MDA, μM) do tecido gengival *vs FO **vs PE ($p < 0,05$ ANOVA, Teste de Tukey)..... 80
- 4 Efeito da venlafaxina sobre a variação da massa corpórea de ratos submetidos à PE. Os animais foram tratados com venlafaxina (venla 10 mg/kg e 50 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes e durante nove dias, consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM da massa corpórea dos animais em *vs FO ($p < 0,05$, ANOVA, Teste de Tukey)..... 82
- 5 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado depressivo na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (Vit E, 500 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados com óleo (veículo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM (ANOVA, Teste de Tukey)..... 85
- 6 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o IPO na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (vit E, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM ($p < 0,001$, ANOVA, Teste de Tukey)..... 89
- 7 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estresse oxidativo (TBARS) na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (vit E) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo). Os resultados foram expressos em média \pm EPM *vs FO ($p < 0,01$) **vs PE ($p < 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey)..... 95

- 8** Efeito do tratamento com vitamina E na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em homogenato de tecido gengival de ratos submetidos à PE (unidades por mg de tecido). Os animais foram tratados com vitamina E (vit E, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da doença experimental. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM, ($p > 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey)..... 96
- 9** Efeito do tratamento com vitamina E sobre a variação da massa corpórea de ratos submetidos à PE. Os animais tiveram suas massas corpóreas avaliadas antes da indução da PE e, após essa, a cada três dias (1^o-11^o). Os animais foram tratados com vitamina E (vit E, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM *vs FO ($p < 0,05$, ANOVA, Teste de Tukey)..... 98

LISTA DE QUADROS

1	Grupos e tratamentos.....	58
2	Escore.....	64

LISTA DE TABELAS

1	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado de ansiedade na PE.....	68
2	Alterações histopatológicas da PE tratada com venlafaxina.....	76
3	Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado de ansiedade na PE.....	83
4	Alterações histopatológicas da PE tratada com vitamina E.....	91

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1	Doença periodontal.....	24
2.1.1	Gengivite.....	28
2.1.2	Periodontite crônica inflamatória – PC.....	29
2.1.3	Relação entre PC e saúde sistêmica.....	29
2.1.4	Relação entre PC e fatores psicossociais.....	31
2.1.4.1	Estresse crônico.....	32
2.1.4.2	Ansiedade.....	33
2.1.4.3	Depressão.....	34
2.1.5	Antidepressivos, antioxidantes e PC.....	43
2.2	Doença periodontal e estresse oxidativo.....	45
2.3	Modelo animal para o estudo da doença periodontal.....	49
2.4	Mensuração da perda óssea alveolar induzida por ligadura.....	51
2.5	Modelos para avaliação comportamental.....	52
2.5.1	Ansiedade.....	52
2.5.2	Depressão.....	52
3	JUSTIFICATIVA.....	54
4	OBJETIVOS.....	55
4.1	Geral.....	55
4.2	Específicos.....	55
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
5.1	Animais.....	56

5.2	Fármaco e antioxidante.....	56
5.2.1	Venlafaxina cloridrato.....	56
5.2.2	Vitamina E.....	57
5.3	Sedação e anestesia.....	57
5.4	Grupos experimentais.....	57
5.5	Desenvolvimento experimental.....	58
5.5.1	Modelo de PE induzida por ligadura em rato.....	58
5.6	Avaliação comportamental.....	60
5.6.1	Labirinto em cruz elevado - teste “plus maze” (PELLOW <i>et al.</i> , 1985).....	60
5.6.2	Depressão - nado forçado (PORSOLT <i>et al.</i> , 1978).....	61
5.7	Análise da estrutura óssea alveolar.....	62
5.7.1	Análise morfométrica.....	62
5.7.2	Mensuração da perda óssea alveolar - POA.....	62
5.7.3	Análise histopatológica.....	63
5.8	Ensaio de imuno-histoquímica: TNF- α e iNOS (HSU, RAINE, FANGER, 1981).....	65
5.9	Avaliação do estresse oxidativo - EO.....	65
5.9.1	Determinação da peroxidação lipídica - TBARS (DRAPER; HADELY, 1990).....	65
5.9.2	Dosagem da enzima superóxido dismutase - SOD (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).....	66
5.10	Análise da variação da massa corpórea.....	66
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	67
7	RESULTADOS.....	68
7.1	Avaliação comportamental.....	68
7.1.1	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado de ansiedade na PE	68
7.1.2	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado depressivo na PE.....	69
7.2	Aspecto macroscópico do tecido ósseo alveolar de ratos submetidos à PE e tratados com venlafaxina.....	71
7.3	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o índice de perda óssea alveolar na PE.....	73

7.4	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre as alterações histopatológicas na PE.....	75
7.5	Efeito do tratamento com venlafaxina na imunomarcção para TNF-α e iNOS nos tecidos gengival e periodontal de ratos submetidos à PE.....	77
7.5.1	Ensaio da imuno-histoquímica para TNF-α.....	77
7.5.2	Ensaio da imuno-histoquímica para iNOS.....	77
7.6	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estresse oxidativo na PE.....	79
7.7	Efeito do tratamento com venlafaxina sobre a variação da massa corpórea na PE.....	81
7.8	Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado de ansiedade na PE.....	83
7.9	Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado depressivo na PE.....	84
7.10	Aspecto macroscópico do tecido ósseo alveolar de ratos submetidos à PE e tratados com vitamina E.....	86
7.11	Efeito do tratamento com vitamina E sobre o índice da perda óssea alveolar na PE.....	88
7.12	Efeito do tratamento com vitamina E sobre as alterações histopatológicas na PE.....	90
7.13	Efeito do tratamento com vitamina E na imunomarcção para TNF-α e iNOS nos tecidos gengival e periodontal de ratos submetidos a PE.....	92
7.13.1	Ensaio da imuno-histoquímica para TNF-α.....	92
7.13.2	Ensaio da imuno-histoquímica para iNOS.....	92
7.14	Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estresse oxidativo na PE.....	94
7.14.1	Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS).....	94
7.14.2	Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD).....	94
7.15	Efeito do tratamento com vitamina E sobre a variação de massa corpórea na PE.....	97
8	DISCUSSÃO.....	99
9	CONCLUSÕES.....	111
	REFERÊNCIAS.....	112

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é reconhecida como uma enfermidade de natureza multifatorial, resultante de uma interação complexa de microorganismos patogênicos e defesa do hospedeiro, cujo desenvolvimento pode ser modificado por fatores locais, condições sistêmicas ou fatores genéticos. Pode ser dividida genericamente em duas categorias principais, as gengivites e as periodontites (ARMITAGE, 1999).

A gengivite, uma forma moderada de doença periodontal não acompanhada de perda dos tecidos de suporte dos dentes, atinge grande número de indivíduos em qualquer população. A resposta inflamatória é iniciada pelo acúmulo da placa bacteriana (biofilme dental) que se forma no sulco gengival, podendo desencadear ou não a perda do periodonto de proteção e de sustentação dos dentes (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965).

A periodontite crônica tem início e continuidade por meio do biofilme dental, contudo, mecanismos de defesa do hospedeiro exercem um papel decisivo na patogênese e suscetibilidade à doença. O ambiente inflamatório estimula a resposta do hospedeiro, induzindo a liberação de mediadores químicos, o recrutamento de células inflamatórias e a ativação de osteoclastos, formando a base da destruição periodontal (ASSUMA *et al.*, 1998). A perda de inserção clínica e sangramento a sondagem são as características mais importantes para o seu diagnóstico (SUSIN, 2007).

A periodontite agressiva compreende um grupo de formas de periodontite de progressão rápida, raras e frequentemente graves, muitas vezes caracterizadas pela idade precoce da manifestação clínica e uma tendência distinta dos casos de desenvolver em uma mesma família (TONETTI; MOMBELLI, 2005). Países em desenvolvimento ou periféricos apresentam maior ocorrência de periodontite crônica e agressiva do que Estados desenvolvidos (SUSIN, 2007).

Estudos relacionam condições psicossociais estresse, ansiedade e depressão com a periodontite (VETTORE *et al.*, 2003; BREIVIK *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2006), por ser essa, na maioria das vezes, uma doença crônica, assim como a maioria das enfermidades de

origem da psique. A depressão, presente de modo provavelmente universal nas diversas populações do mundo é citada como um dado agravante para o prognóstico clínico de várias doenças (câncer, infarto agudo do miocárdio e doenças periodontais), por causar um desequilíbrio imunológico, podendo diretamente aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias e ainda diminuir a resposta imune celular, prolongando processos infecciosos (MATTOS, 2003; RANG *et al.*, 2004). Os transtornos de ansiedade também são frequentes na população em geral, os quais podem ser encontrados em qualquer indivíduo em determinado período da vida (SPIELBERGER, 1981 *apud* CASTRO; ALCHIERI; OPPERMANN, 2005).

Dentre os modelos utilizados na doença periodontal para indução da perda óssea alveolar em rato, destacam-se: o modelo de periodontite induzida por colocação de ligadura, o qual é utilizado por vários pesquisadores (CRAWFORD; TAUBMAN; SMITH, 1978; SALLAY *et al.*, 1982; LIMA *et al.*, 2000; FERNANDES *et al.*, 2007); o modelo por inoculação de toxinas bacterianas – lipopolissacarídeos (LLAVANERAS *et al.*, 1999); mediante a introdução de microorganismos patogênicos (JORDAN; KEIS; BELLACK, 1972) e por manipulação na dieta (ROBINSON; HART; PIGOTT, 1991; GALVÃO *et al.*, 2003).

Em pesquisa periodontal, o cão beagle, o primata e o rato são os mais usados para o estudo da etiologia, patogênese e terapia de doenças periodontais inflamatórias crônicas. Entre os animais citados, o rato é o mais comumente utilizado, por constituir alternativa barata, de fácil obtenção e manuseio; além disso, existem entre esse animal e o homem similaridades biológica, anatômica e histopatológica dos tecidos periodontais (KLAUSEN, 1991; SUSIN; RÖSING, 2002). Neste experimento, utilizou-se o rato (*Rattus norvegicus*, *Wistar*) no modelo de periodontite induzida por colocação de ligadura (PE).

As doenças gengivais e periodontais são tratadas de maneira satisfatória por meio do controle do biofilme dental, e os resultados desse tratamento podem ser mantidos por uma terapia de manutenção regular. Em outros casos, a perda óssea alveolar continua mesmo com todo o rigor no controle desse biofilme. Em tais situações, substâncias são utilizadas em estudos experimentais de periodontite induzida em ratos (LIMA *et al.*, 2000; MENEZES *et al.*, 2005) na intenção de prevenir ou inibir essa destruição, seja pela interferência na microbiota relacionada a esta enfermidade ou pela modulação das respostas inflamatórias e/ou imunes do hospedeiro.

No contexto de que a doença periodontal pode ter efeito importante sobre a saúde geral dos indivíduos, considerando que os fatores psicossociais atuam como indicadores de risco à periodontite (SUSIN, 2007) e com base nos achados de Breivik *et al.* (2006), em que o uso de um antidepressivo (tianepitina) inibiu a perda óssea alveolar, este ensaio buscou elucidar a associação entre periodontite crônica e intercorrências sistêmicas, como a ansiedade e depressão, e se o uso de um antidepressivo (venlafaxina) inibia a destruição óssea alveolar, ocasionada por essa doença. Assim, além do modelo de PE (LIMA *et al.*, 2000), foram utilizados os modelos comportamentais de labirinto em cruz elevado, para avaliar a ação ansiolítica (PELLOW *et al.*, 1985) e o nado forçado, para avaliar o estado depressivo dos animais (PORSOLT *et al.*, 1978).

A vitamina E foi outra estratégia farmacológica utilizada nesta pesquisa, em virtude de estudos anteriores terem demonstrado o uso dessa substância na prevenção e terapia de doenças periodontais, a qual demonstrou propriedades anti-inflamatória e antioxidante (COHEN, MEYER, 1993; BECK *et al.*, 1994). Adicionalmente a esse fato, investigações mais recentes dão margem à discussão sobre a relação da doença periodontal com o estresse oxidativo (TRIANA; BERNABEU; FEBLES, 2002; GIANNOPOULO; KRAUSE; MÜLLER, 2008; OHNISHI *et al.*, 2009) de modo que a vitamina E foi utilizada neste estudo com o objetivo de verificar seus efeitos sobre os tecidos periodontais e estresse oxidativo, no modelo de PE.

Observa-se que há uma preocupação constante na busca para se identificar os fatores envolvidos na etiopatogenia da doença periodontal, bem como para minimizar as sequelas deixadas por essa enfermidade. Talvez encontrar um tratamento coadjuvante que venha diminuir a perda óssea alveolar e a manter os resultados obtidos pós-tratamento periodontal, via tratamento farmacológico, possa constituir uma opção a mais para a prevenção e o tratamento dessa doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença periodontal

A doença periodontal (DP) é reconhecida como enfermidade inflamatório-imunológica dos tecidos de proteção e suporte dos dentes, causadas por microorganismos patogênicos que colonizam a superfície dentária supra ou subgingivalmente, existindo uma interação complexa entre esses e a resposta do hospedeiro, cujo desenvolvimento pode ser modificado por fatores locais, sistêmicos ou genéticos (PAGE; BECK, 1997; KINANE; BARTOLD, 2007; MARTINS; MARTINS, 2007).

Está bem documentado na literatura o fato de que o acúmulo bacteriano sobre os dentes induz a uma resposta inflamatória nos tecidos gengivais, e que a remoção desse depósito resulta no desaparecimento dos sinais clínicos de inflamação. Isso tornou evidente ser a placa bacteriana o principal fator de contribuição para o surgimento da doença periodontal (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; GRAVES; AL-MASHAT; LIU, 2004; GIANNOPOULOU; KRAUSE; MÜLLER, 2008).

A placa bacteriana exibe propriedades típicas de um biofilme verdadeiro, compreendido como uma comunidade cooperativa altamente organizada e estruturada, que consiste em bactérias em uma matriz composta principalmente de polímeros extracelulares de origem bacteriana e produtos do exudato do sulco gengival e ou saliva (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999; MARSH, 2005).

A composição do biofilme dental difere consideravelmente entre saúde e doença periodontal. *Actinomyces* e *Streptococcus* são espécies consideradas compatíveis com o hospedeiro no estado de saúde, enquanto *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Campylobacter*, e principalmente *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* estão em maiores proporções nos indivíduos periodontalmente comprometidos (FERES; FIGUEIREDO, 2007).

A fisiopatologia da DP (periodontite) é complexa. O início e a continuidade ocorrem a partir do biofilme dental, contudo, mecanismos de defesa do hospedeiro, exercem papel decisivo na patogênese e suscetibilidade à doença. No momento em que há agressão tecidual, o ambiente inflamatório estimula a resposta do hospedeiro, induzindo a liberação de vários mediadores químicos inflamatórios, provenientes das próprias células de defesa ou dos tecidos danificados, como as citocinas, fatores de crescimento, enzimas líticas, bem como o recrutamento de células inflamatórias e ativação de osteoclastos, formando a base da destruição periodontal (GENCO, 1992; ASSUMA *et al.*, 1998; GRAVES; COCHRAN, 2003).

As citocinas constituem um grupo de proteínas solúveis, que agem como mensageiras, transmitindo sinais intercelulares e realizando numerosas ações, que incluem a iniciação e a manutenção das respostas imune e inflamatória e a regulação do crescimento e da diferenciação celular (KINANE; BERGLUNDH; LINDHE, 2005). Em relação à resposta inflamatória, as citocinas pró-inflamatórias interleucinas (IL-1, IL-1 β) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) tanto estimulam a reabsorção quanto inibem a formação óssea. O remodelamento ósseo depende de um delicado balanço entre a formação óssea e a reabsorção. A presença da IL-1 e do TNF- α é um fator importante que ocasiona reabsorção óssea na DP. Foi observado que 80% do recrutamento das células inflamatórias e 60% da perda óssea decorrente da periodontite podiam ser observados pelo bloqueio do TNF. Esses efeitos decorrem da sua função como mediador primário na resposta inflamatória (ASSUMA *et al.*, 1998). Graves, Al-Mashat e Liu (2004); Lima *et al.* (2004) demonstraram também que quando esse mediador foi inibido, houve redução significativa da perda óssea.

As citocinas pró-inflamatórias são capazes de induzir os macrófagos e outras células a produzirem grandes quantidades de prostaglandinas, também importantes mediadores implicados na patogênese da DP, particularmente a PGE2 (principal metabólito do ácido araquidônico, podendo ser produzida pela maioria das células) que age sobre os fibroblastos e osteoclastos, induzindo a produção de metaloproteinases, responsáveis pela remodelação e pela degradação dos componentes da matriz (KINANE; BERGLUNDH; LINDHE, 2005).

O desenvolvimento e o controle de uma resposta imunológica dependem, em parte, da produção local de um número de citocinas as quais podem determinar se a resposta

será protetora ou não protetora. Na avaliação periodontal, as citocinas podem ser medidas no fluido gengival, no sangue periférico e no próprio tecido gengival, com o objetivo de determinar a progressão e a atividade da doença (OROZCO *et al.*, 2007; MARTINS; MARTINS, 2007). De acordo Van Dyke (2008), a doença periodontal inflamatória crônica envolve vários mecanismos para a restauração da homeostase.

Estudos apontam para uma relação entre a produção de óxido nítrico (NO) e a DP. Hukkanen *et al.* (1995) salientaram que, na periodontite, a expressão óxido nítrico sintase induzível (iNOS, enzima que sintetiza o NO a partir da L-arginina) pode apresentar diferentes efeitos nos tecidos, os quais podem ser benéficos, como atividade antimicrobiana, modulação imunitária, inibição da trombose microvascular, bem como aumento da perfusão tecidual. Por outro lado, os efeitos prejudiciais podem incluir uma ação citotóxica em direção ao tecido, incluindo a reabsorção óssea alveolar, em virtude do efeito estimulante do NO sobre a atividade dos osteoclastos. Lohinai *et al.* (1998), em um modelo de periodontite experimental em ratos, sugeriram que a mucosa gengival e as células epiteliais são capazes de induzir iNOS. Nesse estudo, foi observado que um baixo nível de óxido nítrico pode ajudar na homeostase local, enquanto, níveis elevados durante reações inflamatórias podem contribuir para danos teciduais. Em humanos, estudo de Gaspirc, Maser e Skaleric (2002) demonstrou presença de iNOS nos tecidos gengivais inflamados de pacientes portadores de periodontite juvenil. Mais recentemente, Leitão *et al.* (2005) demonstraram no modelo de periodontite experimental em ratos que a inibição da NOS induzida diminuiu a reabsorção óssea alveolar. Os autores salientaram que esse efeito estava associado com a redução da inflamação local.

Uma das questões ainda em debate é se a prevalência mundial da DP está aumentando ou diminuindo. Uma resposta universal não é possível, uma vez que a prevalência dessa enfermidade parece variar de acordo com a raça e a região geográfica. Além disso, a qualidade dos dados disponíveis oriundos de países desenvolvidos e em desenvolvimento não permite que eles sejam comparados com clareza (PAPAPANOU; LINDHE, 2005).

Um estudo clássico da história natural das doenças periodontais em uma população que não tinha acesso a cuidados dentários mostrou que nem todos os indivíduos com grande quantidade de placa bacteriana, cálculo dental e com gengivite desenvolveram periodontite. Verificou-se que em 100% dos indivíduos a placa bacteriana era visível e,

praticamente, todos exibiam inflamação gengival; 81% apresentavam periodontite de progressão moderada; 8% avançada e 11% sem progressão. Os resultados mostraram que o acúmulo de placa bacteriana estava relacionado com a inflamação gengival, mas esta não progride necessariamente para a periodontite, que, por sua vez, não é somente consequência natural do acúmulo de placa bacteriana (LÖE *et al.*, 1986).

No Brasil existem poucos estudos sobre a prevalência das doenças periodontais em base populacional. Segundo dados do Ministério da Saúde, as doenças periodontais apresentam elevada incidência e prevalência na população brasileira com destaque especial no Nordeste onde apenas 22% dos adultos e 8% dos idosos apresentam saúde periodontal (BRASIL, 2004). Estudo feito em Erval Velho-SC mostrou que a prevalência da doença periodontal foi alta e a severidade baixa; além disso, evidenciou uma associação entre a escovação dentária e a presença da DP. Indivíduos que escovavam seus dentes menos de duas vezes por dia ou trocavam suas escovas menos de duas vezes em um ano tiveram maior prevalência de DP (CROSATO; BIAZEVIC; CROSATO, 2005).

Susin (2007) enfatizou: i) gengivite atinge um grande número de indivíduos em qualquer população, sendo que formas localizadas afetam quase que 100% destes, sendo raros os que não apresentam pelo menos alguns sítios com sangramento gengival; ii) uma grande parcela da população brasileira apresenta periodontite crônica e, sua prevalência, extensão e severidade aumentam significativamente com a idade e iii) um número importante de adolescentes e jovens apresenta sinais iniciais de periodontite crônica, entretanto, perdas de inserção graves são pouco frequentes e afetam um número reduzido de dentes.

A literatura demonstra haver uma relação próxima entre periodontite, fatores socioeconômicos e demográficos. Ortiz Rugeles (2000), Susin *et al.* (2004), Borges-Yáñez; Irigoyen-Camacho; Maupomé (2006); López e Baelum (2006) observaram que indivíduos com baixo nível socioeconômico apresentaram maior ocorrência de periodontite. Isto parece ser refletido também na diferença entre a população urbana e rural, com piores condições periodontais para esta última (HERNÁNDEZ *et al.*, 2000). Com respeito ao hábito de fumar, indivíduos fumantes mostraram condições periodontais significativamente mais graves do que os não fumantes (SUSIN *et al.*, 2004; CORTELLI *et al.*, 2005; BORGES-YÁÑES *et al.*, 2006). Em relação à idade, mesmo com todas as diferenças metodológicas utilizadas e

diferenças geográficas, a progressão da doença periodontal pareceu ser mais evidente na população idosa (BORGES-YÁNES *et al.*, 2006).

Levantamento realizado no Brasil mostrou que indivíduos com menor escolaridade e menor renda *per capita* apresentaram índice mais elevado de periodontite. Além disto, foi observado também maior risco de periodontite entre os homens adultos (PERES *et al.*, 2007). Apesar dos dados epidemiológicos indicarem alta prevalência da DP, não existem elementos suficientes para traçar com exatidão o perfil dessa doença na população da América Latina. Talvez, isto ocorra em razão das diferenças metodológicas utilizadas para avaliar a presença dessa enfermidade (ARAÚJO; SUKEKAVA, 2007). Dados recentes apontam para um decréscimo da prevalência da periodontite moderada e severa nos Estados Unidos, porém, a maioria dos estadunidenses, apresenta periodontite crônica leve e isto torna um fator socioeconômico preocupante (COBB; WILLIAMS; GERCOVITCH, 2009).

2.1.1 Gengivite

A gengivite é caracterizada como inflamação do periodonto de proteção, decorrente do acúmulo de biofilme supragengival, sem destruição dos tecidos periodontais de suporte. A reinstituição da higiene oral resulta em condições de saúde gengival e restabelecimento da flora bacteriana original (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965). Variações hormonais e certos fármacos como a nifedipina e a ciclosporina podem resultar em resposta exagerada à inflamação, modificando a gengivite. Além disso, a gengivite é também influenciada pelo fumo, o qual tende a reduzir a inflamação, possivelmente pelo efeito da nicotina, causando constrição vascular periférica, redução do edema e diminuição do fluxo do fluido gengival crevicular (KINANE, 2001). Embora o biofilme bacteriano seja o fator determinante na inflamação dos tecidos periodontais, nem todos os indivíduos que apresentam gengivite irão desenvolver periodontite. A progressão da gengivite para a periodontite é fortemente determinada pelos fatores de risco do hospedeiro (KINANE; LINDHE, 2005). O sangramento da margem da gengiva é a característica clínica mais importante para o diagnóstico da gengivite, entretanto mudanças na coloração e aumento de volume gengival são achados comuns (SUSIN, 2007).

2.1.2 Periodontite crônica inflamatória - PC

A periodontite crônica inflamatória (PC) envolve a destruição das estruturas de suporte dos dentes, e claramente é a mais significativa das doenças periodontais, porque pode causar perda dental (HONG *et al.*, 2004; DUMITRESCU *et al.*, 2006; KINANE *et al.*, 2007; SUSIN, 2007). A sua causa está associada a um pequeno grupo de bactérias Gram-negativas presentes nas superfícies radiculares dos dentes como biofilme. Estudo realizado por Haffajee *et al.* (2004) em quatro países, inclusive o Brasil (Rio de Janeiro), sobre o perfil da microbiota subgingival, mostrou uma diferença marcante dessa microbiota, mesmo depois de ajustadas variáveis como a idade, a profundidade de sondagem, o sexo e o hábito de fumar, sugerindo que a microbiota periodontal pode variar de acordo com a região geográfica.

Socransky *et al.* (1984) sugeriram que a PC evoluía em episódios de exacerbação e regressão (hipótese de explosão). Estudos mais recentes sugerem que a natureza progressiva da periodontite crônica é contínua com breves episódios de exacerbação localizada e remissão ocasional, onde apenas alguns indivíduos sofrem destruição avançada, afetando dentes específicos. O início do acometimento e a velocidade de progressão da doença variam entre indivíduos e, provavelmente, estão relacionados com fatores de risco genéticos e ambientais (PAGE, 1998; KINANE, 2001). Sangramento a sondagem, aumento do espaço do ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar constituem os sinais clínicos e radiográficos dessa enfermidade. Características variáveis incluem recessão gengival, exposição de furca, mobilidade e inclinação dentária aumentada. Clinicamente, a natureza progressiva da doença só pode ser confirmada por meio de exames repetidos, mas seguramente lesões sem tratamento evoluirão (KINANE; LINDHE, 2005).

2.1.3 Relação entre PC e saúde sistêmica

Com a possibilidade de que as bactérias bucais e as respostas teciduais inflamatórias decorrentes do acúmulo bacteriano e/ou suas toxinas poderiam influenciar o início e/ou a progressão de vários processos patológicos sistêmicos, Offenbacher *et al.* (1996) empregou o termo Medicina Periodontal com a intenção de estabelecer uma relação entre condição periodontal e sistêmica. Desde então, vários estudos foram direcionados para o fato de que as enfermidades periodontais poderiam ter efeitos importantes sobre a saúde geral. (BECK *et al.*, 1998; PAGE, 1998; SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003; SCANNAPIECO,

2004; DAVE; BATISTA; VAN DYKE, 2004; GOLUB *et al.*, 2006; BRUNETTI; MORAIS; MORAIS; 2007).

Kinane *et al.* (2003) observaram que determinados indivíduos são suscetíveis à periodontite, enquanto outros são relativamente resistentes, mesmo às formas mais graves dessa doença. Isto levou à hipótese de que somente a suscetibilidade genética do hospedeiro e a presença de patógenos não eram suficientes para explicar o início e a progressão dessa enfermidade, mas, também, inúmeros fatores de risco poderiam modular a suscetibilidade ou a resistência dos indivíduos para doenças periodontais destrutivas.

Fator de risco significa um aspecto de estilo de vida, uma exposição ambiental, ou uma característica inata ou inerente, que, embasado na evidência epidemiológica, está associado a uma determinada doença, podendo fazer parte da cadeia casual dessa e/ou predispor o hospedeiro a desenvolvê-la. Um indivíduo que apresenta um ou mais fatores de risco tem maior probabilidade de contrair a doença ou de desenvolvê-la de forma mais grave. (KINANE; LINDHE 2005). Vários estudos evidenciaram a participação da PC como fator de risco para doenças sistêmicas, tais como cardiopatia coronariana, nascimento de bebês prematuros com baixo peso, diabetes, doença pulmonar, infecções respiratórias, tabagismo, raça/etnia, estresse e envelhecimento (BECK *et al.*, 1996; OFFENBACHER *et al.*, 1996; SCANNAPIECO; MYLOTTE, 1996; BECK *et al.*, 1998; PAGE, 1998; SCANNAPIECO; HO, 2001; SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003; PERUZZO *et al.*, 2004, CORRÊA *et al.*, 2005; OPPERMAN *et al.*, 2005; DEMMER; DESVARIEUX, 2006).

De acordo com Susin (2007), os microrganismos, o fumo e o diabetes são as exposições que apresentam as maiores evidências do seu papel como fator de risco às periodontites, enquanto fatores demográficos e socioeconômicos, polimorfismos genéticos, fatores psicossociais, osteopenia/osteoporose, infecção pelo HIV, obesidade e consumo excessivo de álcool são considerados indicadores de risco, em virtude de não estar claro ainda a existência real de uma relação causal entre a exposição e a doença. Esses fatores precisam ser mais estudados para que se possa confirmar ou refutar seu papel na causalidade das doenças periodontais.

2.1.4 Relação entre PC e fatores psicossociais

Na DP existem estudos *in anima vili* e *in anima nobili* que ligam os fatores psicossociais (estresse, ansiedade e depressão) e suas vias a essa enfermidade. Esses fatores, por constituírem eventos frequentes na população moderna atual, e por criarem condições favoráveis para o desenvolvimento de doenças, podem afetar os indivíduos de formas diferentes, dependendo da idade, do tipo do evento, da personalidade e da história de vida de cada um (BAKER; CROOK; SCHWABACHER, 1961; MOSS *et al.*, 1996; BIONDI, ZANNINO, 1997; GENCO, 1998; BREIVIK *et al.*, 2000; VETTORE *et al.*, 2003; PERSSON *et al.*, 2003; PERUZO *et al.*, 2004; VADENAL; JORGE; SANTOS, 2004; SOLIS *et al.*, 2004; DOLIC *et al.*, 2005; KLAGES; WEBER; WEHRBEIN, 2005; VETTORE *et al.*, 2005; SALETU *et al.*, 2005; BREIVIK *et al.*, 2005; CASTRO *et al.*, 2006; DUMISTRESCU, 2006; SEMENOFF-SEGUNDO *et al.*, 2007).

Os mecanismos pelo quais os fatores psicossociais podem influenciar na condição periodontal são muito discutidos e, em muitos aspectos, de compreensão difícil. Um dos possíveis mecanismos dessa influência está relacionado com hábitos comportamentais (modelo comportamental). Quando o indivíduo se encontra com alto nível de estresse ou com outro evento negativo na vida, tende a negligenciar sua higiene oral, intensifica o uso do fumo ou muda seu hábito alimentar. Todas essas mudanças refletem negativamente nas funções do sistema imunológico, tornando o organismo mais suscetível aos microorganismos patogênicos (GENCO *et al.*, 1998; BREIVIK *et al.*, 2000; KIBAYASHI *et al.*, 2007). Similarmente, os indivíduos sob estresse procuram menos assistência médica; o outro mecanismo (modelo biológico) está baseado na interação neuro-imune-endócrina, com uso de mediadores químicos e hormônios produzidos pelo organismo em situações adversas. O estresse aumenta a produção de cortisol pelo córtex da suprarrenal ao estimular um aumento na liberação de adrenocorticotrópico da hipófise (GENCO *et al.*, 1999; KLOKKEVOLD; MEALEY, 2007).

O sistema nervoso simpático e o eixo adrenal-pituitário-hipotalâmico compõem o sistema de resposta ao estresse, assim como os sistemas nervoso parassimpático e o nervoso peptidérgico sensorial estão entre os caminhos centrais dos mecanismos regulatórios cérebro-sistema imune (HORI *et al.*, 1995; ELENKOV *et al.*, 2005). O sistema imune é controlado e regulado por mecanismos de comunicação bidirecionais cérebro-sistema imune, cuja ação da resposta pode ser desregulada por carga emocional (estresse) assim como por

outros sinais internos e externos de perigo (CHROUSOS, 2000; PAVLOV; TRACEY, 2004). Esses caminhos imunorregulatórios controlam as respostas do sistema imune aos desafios antigênicos de maneira tal, que eles têm um papel significativo no desenvolvimento e progressão de infecções e doenças inflamatórias, inclusive a periodontite (BREVIK *et al.*, 2005; ELENKOV *et al.*, 2005; BEHL *et al.*, 2008).

2.1.4.1 Estresse crônico

Estudos relacionam o estresse crônico na progressão da DP. Marucha; Kiecolt-Glaser; Favagehi (1998) salientaram que o estresse crônico comprometia a capacidade de reparo dos tecidos lesados, contribuindo dessa forma, para a evolução da gengivite crônica para PC. Além disso, o estresse parece induzir mudança do padrão de resposta imune dos linfócitos TH₁ (relacionado com lesões estáveis), para TH₂ (lesões em progressão), o que geralmente resulta em profunda suscetibilidade do organismo aos microorganismos combatidos pelas defesas mediadas por células. Benatti *et al.* (2003) observaram no modelo de periodontite experimental induzida por ligadura em ratos (PE) que o estresse por si só não foi capaz de aumentar a destruição periodontal, mas, quando associado ao uso da nicotina, podia aumentar os efeitos dessa destruição. Por sua vez, Susin e Rösing (2003), usando um modelo de estresse crônico moderado, demonstraram em ratos com periodontite induzida redução da perda óssea alveolar (POA), no grupo ligadura associado com estresse, comparado ao grupo somente com ligadura. Posteriormente, Benatti *et al.* (2005) constataram em ratos submetidos à periodontite experimental que o estresse pode aumentar a formação de compostos sulfurados voláteis (gases liberados pela cavidade oral como resultado do metabolismo bacteriano) que em alguns casos estão relacionados com DP. Mais recentemente, Semenoff-Segundo *et al.* (2007) observaram que o modelo de estresse crônico (durante 60 dias) foi capaz de induzir maior progressão de periodontite induzida por ligadura em ratos.

Como pode ser observado, os estudos são divergentes e, provavelmente, este acontecimento seja consequência das diferenças metodológicas existentes nesse modelo, tais como: duração, forma, variação do período do dia, linhagem dos animais, forma de leitura e processamento histológico do periodonto (SEMENOFF-SEGUNDO *et al.*, 2007).

A gengivite ulcerativa necrosante (GUN) é mencionada como condição relacionada ao estresse. A prevalência dessa doença teve seu ápice na Europa durante a Segunda Guerra Mundial e, embora a presença do biofilme na superfície dental, associada a um baixo padrão de higiene bucal, sejam fatores determinantes para o seu surgimento, o estresse psicológico pode contribuir de alguma forma para o início e desenvolvimento dessa enfermidade (PINDBORG, 1951; FRANCO *et al.*, 2007). Klokkevold e Mealey (2007) salientaram, no entanto, que, mesmo com a conhecida associação entre estresse e GUN, confirmar a conexão entre condições psicológicas como o estresse e outras formas de doença periodontal, como a periodontite crônica, é de custosa elucidação, porque a etiologia e a patogenia da doença periodontal são multifatoriais e o papel de fatores individuais, como o estresse, é difícil de definir. É importante salientar que, embora o estresse possa predispor um indivíduo a mais destruição por periodontite, a presença de patógenos periodontais permanece como o fator etiológico essencial a essa doença. O estresse isoladamente não causa ou leva à periodontite - enfatizaram os autores.

2.1.4.2 Ansiedade

A resposta ao medo normal ante a estímulos ameaçadores compreende vários componentes, destacando-se comportamento de defesa, reflexos autonômicos, despertar e alerta, secreções de corticosteróide e emoções negativas. Nos estados ansiosos, essas reações ocorrem de uma maneira antecipada, independentemente dos eventos externos. A distinção entre um estado ansioso “patológico” e um “normal” não tem contornos nítidos, contudo, representa o ponto no qual os sintomas passam a interferir com as atividades produtivas normais (RANG *et al.*, 2004).

A ansiedade pode ser compreendida como um estado emocional com os componentes psicológicos e fisiológicos, fazendo parte das experiências humanas, passando a ser patológica quando é desproporcional à situação que a desencadeia, ou quando não existe um objeto específico ao qual se direcione (ANDRADE; GORENSTEIN, 2000 *apud* CASTRO; ALCHIERI; OPPERMANN, 2005). A ocorrência populacional da ansiedade varia de 5 a 12% (ALMEIDA FILHO *et al.*, 1992). No Brasil, existe a possibilidade de a taxa ser mais elevada do que em outros países, considerando condições adversas relativas a instabilidade socioeconômica, habitação, saúde e escolaridade (LIMA; LIMA; MARI, 1997). Os distúrbios clinicamente reconhecidos como transtornos de ansiedade incluem: o transtorno

da ansiedade generalizada; o do pânico (sendo relatadas as taxas mais significativas de utilização de serviços de saúde), fobia social, transtorno do estresse pós-traumático, transtorno obsessivo compulsivo e transtorno disfórico pré-menstrual. Os fármacos mais usados no tratamento da ansiedade são os antidepressivos e os ansiolíticos (ALMEIDA FILHO *et al.*, 1992; RANG *et al.*, 2004).

Com o propósito de verificar a relação entre estresse e ansiedade com a periodontite crônica, Vettore *et al.* (2003) avaliaram 79 indivíduos. Os resultados desse estudo mostraram que as pessoas com traços de ansiedade pareciam ser mais propensas à DP. Posteriormente, os mesmos autores (2005) verificaram a influência do estresse e da ansiedade na resposta ao tratamento periodontal não cirúrgico. Os resultados dessa investigação suportaram a hipótese de que os fatores psicossociais podem contribuir para a etiologia da DP, além de afetar o estado periodontal após o tratamento.

2.1.4.3 Depressão

A depressão, considerada um dos transtornos psiquiátricos mais comuns, apresenta sintomatologia sutil e início relativamente precoce. Sua causa está atribuída a múltiplos fatores sociais, psicológicos e profissionais, apresentando grande vulnerabilidade genética, sendo precipitada ou agravada por eventos negativos da vida. Fatores de ordem genética respondem por aproximadamente 40-50% dos riscos de desenvolver a doença. Outros fatores não genéticos – trauma na infância, estresse emocional, doenças de ordem física e até mesmo infecções virais – foram citados como importantes no surgimento desse distúrbio (BERTON; NESTLER, 2006).

Estudos demonstraram que essa doença pode contribuir para o agravamento do prognóstico clínico de várias outras, por causar uma desregulação imunológica, podendo diretamente aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias, que interferem em condições como: câncer, diabetes, cardiopatias, SIDA, artrite, doenças periodontais, podendo ainda diminuir a resposta imune celular prolongando processos infecciosos (MATTOS, 2003). Segundo Rang *et al.* (2004), os sintomas da depressão incluem componentes emocionais (falta de motivação ou desinteresse, redução de energia, redução ou ausência da capacidade de sentir prazer na vida ou no lazer, indecisão) e componentes biológicos (retardo de pensamento e de ação, perda da libido, distúrbio do sono e perda do apetite). Hollister (1994) classificou a

depressão com base na sua origem em: depressão reativa ou secundária (60% dos casos, ocorrendo em resposta a estímulos reais como pesar e doença, entre outros); depressão endógena (25% dos casos, em virtude de um distúrbio bioquímico geneticamente determinado, manifestado pela incapacidade de enfrentar o estresse habitual) e depressão associada com distúrbio afetivo bipolar (10-15% dos casos).

Estima-se que a prevalência da depressão seja em torno de 16,5% - 18% da população, ocorrendo em ambos os sexos, sendo o feminino, principalmente na fase reprodutiva, duas vezes mais frequente (MORENO, 2003). A prevalência máxima da doença se encontra nas faixas etárias de 25 a 45; após os 75 anos de vida, parece haver uma diminuição dessa prevalência, provavelmente, em virtude da menor sobrevivência dos indivíduos com história pessoal de depressão. Bernik (2003) salientou que mais de 80% dos indivíduos com depressão apresentaram certo grau de ideação suicida, sendo esse o pior desfecho da doença. Somente cerca de um terço dos deprimidos procuram tratamento e a maioria é subdiagnosticada, subtratada, prolongando o sofrimento e agravando as consequências da depressão (HOLLISTER, 1994; JUSTO; CALIL, 2006). De acordo com Moreno (2003), o transtorno depressivo representará a segunda maior causa de incapacidade até 2020, caracterizando-se como um dos maiores e mais onerosos problemas de saúde pública.

- **Neurotransmissores - aminas biogênicas**

Serotonina, noradrenalina, dopamina e acetilcolina constituem o grupo das aminas biologicamente ativas, funcionando como neurotransmissores em sistemas cerebrais originados do tronco cerebral. Os principais neurotransmissores relacionados com a depressão e a ansiedade são respectivamente a serotonina e a noradrenalina (BERNIK, 2003).

A serotonina origina-se de neurônios dos núcleos da rafe no tronco cerebral com projeções amplas por todo o cérebro, sendo possível interagir com outras aminas biogênicas e participar na regulação de funções psicobiológicas fundamentais, que se encontram alteradas na depressão, no humor, na ansiedade, cognição, dentre outras. É atribuído à serotonina o papel principal de atuar como freio biológico em uma série de comportamentos (agressividade, impulsividade, reações de fuga ou luta). Assim, fármacos que aumentam a atividade serotoninérgica central são úteis no tratamento da depressão, exercendo a sua função mediante sistemas de receptores com diferentes mensageiros secundários intracelulares

(BERNIK, 2003). Por sua vez, a noradrenalina é frequentemente associada à defesa e à ansiedade e praticamente a metade dos corpos celulares dos neurônios noradrenérgicos cerebrais estão localizados no *locus cerúleo* estrutura implicada na ansiedade (GRAEFF; HETEM, 1997).

- **Neurobiologia da depressão**

Ainda há muito o que se esclarecer sobre a etiologia e a fisiopatologia da depressão, apesar do impacto que esse transtorno tem sobre a qualidade de vida de milhões de pessoas em todo o mundo. Um dos principais problemas reside na extensão do conceito de depressão, que engloba uma série de categorias diagnósticas. Falta esclarecer se essas categorias representam doenças com fisiopatologias distintas ou variantes sintomáticas da mesma condição (BERNIK, 2003).

Pelo fato dos sistemas cerebrais originados no tronco cerebral modularem a atividade de múltiplos circuitos neuronais, foi sugerido que uma menor disponibilidade de aminas biogênicas cerebrais, em particular de serotonina, noradrelanina e dopamina, e, conseqüentemente, das interações com seus respectivos receptores, em determinadas regiões do sistema nervoso central - SNC, levaria a um distúrbio afetivo como a depressão – hipótese monoaminérgica (SCHILKRAUT, 1965). Essa proposição é reforçada pelo conhecimento do mecanismo de ação dos antidepressivos, que se baseia, sobretudo, no aumento da disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica, seja pela inibição (seletiva ou não) de suas recaptações, seja pela inibição da enzima responsável por suas degradações (inibidoras da monoaminoxidase) [(NISHIDA *et al.*, 2002)].

Outros estudos, no entanto, confirmaram que o sistema monoaminérgico exerce influência modulatória, contudo, não representa a via final comum na regulação do humor. Outros sistemas que regulam a plasticidade neuronal e sináptica têm importância central na neurobiologia e tratamento desse transtorno. Desta forma, além da hipótese monoaminérgica e de todos os seus desdobramentos (cascatas de sinalização intracelular, modulação na expressão dos genes) outras teorias estão sendo discutidas para um melhor entendimento da etiologia desse transtorno de humor, como: a hipótese neuroquímica – transtornos do humor podem ser causados por alterações estruturais e funcionais em determinada molécula do SNC; a de redes neurais – decorrentes de problemas no processamento de informações dentro de

uma determinada rede neural (MANJI; DREVETS; CHARNEY, 2001; NESTLER *et al.*, 2002; COYLE; DUMAN, 2003) e a hipótese da participação dos sistemas endócrino e imune, mediante mediadores químicos e hormônios produzidos pelo organismo em situações adversas (GENCO *et al.*, 1999; CASTRÉN; VOIKAR; RANTAMAKI, 2007).

Assim, novos neurônios continuam sendo gerados no cérebro adulto de diversas espécies de animais e que os antidepressivos atuam por meio de uma melhora gradual no processamento das informações dentro deste circuito neural, iniciando um processo de autorreparação, pelo qual a plasticidade em determinadas redes neurais e neurotransmissão colaborariam gradualmente para a melhora do humor (CASTRÉN, 2005). Diversos fatores ambientais, inclusive o estresse, influenciam a proliferação de células hipocampais. Neste sentido, a diminuição da neurogênese induzida por estresse pode ser importante fator na etiologia da depressão (BEKER; WOJTOWICZ, 2007).

Até o momento os resultados são sugestivos de uma associação entre diminuição de neurogênese (hipocampal) e depressão. Esses resultados foram obtidos em estudos nos quais os antidepressivos aumentaram a neurogênese. Mais ainda, o efeito antidepressivo, observado no comportamento animal, foi bloqueado pela inibição da neurogênese. Além disso, pode-se especular que um prejuízo da neurogênese preceda a depressão, aumentando a vulnerabilidade aos fatores psicossociais ou modificando a capacidade adaptativa do organismo ao ambiente; assim, manipulações da neurogênese no sentido de aumentá-la poderiam tornar uma perspectiva a mais na busca de uma terapêutica mais efetiva (SCORZA *et al.*, 2005).

- **Impacto socioeconômico da depressão**

Além dos prejuízos individuais que a depressão causa sobre a qualidade de vida de milhões de pessoas em todo o mundo, essa doença apresenta forte impacto sobre a saúde pública, sendo tão comum como a hipertensão arterial, diabetes ou doenças pulmonares, porém, se associa a uma limitação física maior, a uma maior incapacidade para o trabalho e a um número superior de dias de hospitalização (JUDD, 1995).

Um estudo de revisão sobre farmacoeconomia da depressão mostrou resultados semelhantes em diversos países, ou seja, o maior custo direto do tratamento da depressão estava associado à internação (entre 43% e 75% da média do custo por doente), enquanto os

custos com medicamentos variaram entre 2% a 11%. O custo do tratamento da depressão é significativamente maior que o de outras doenças crônicas como Alzheimer, câncer, osteoporose e esquizofrenia e, por ter a depressão uma elevada tendência à recorrência e à cronicidade, os indivíduos acometidos por esse transtorno ficam incapacitados por longos períodos de suas vidas, o que causa um grande impacto social e econômico (BERTO *et al.*, 2000). O comprometimento das relações interpessoais e sociais, a perda ou diminuição de salários e o número maior de dias de licenças médicas são fatores significativos no comprometimento da capacidade laborativa, representando o maior custo da depressão de acordo com a Organização Mundial da Saúde (MATTOS, 2003).

Estudos têm sido realizados para um melhor entendimento da associação entre depressão e PC. Persson *et al.* (2003) demonstraram em um estudo realizado com 701 idosos, que a depressão não estava associada com fator de risco para a periodontite, mas à perda dentária, que poderia indicar uma história, durante um período de depressão e/ou com condições crônicas associadas à dor. Solis *et al.* (2004) investigaram se indivíduos com transtorno depressivo tinham maior probabilidade de apresentar PC. Os resultados mostraram que a depressão não aumentou o risco para essa doença. Posteriormente, Saletu *et al.* (2005) examinaram 40 indivíduos (16 mulheres e 24 homens) com periodontite. Nesse estudo, foi verificada uma relação relevante entre depressão e periodontite. Mais recentemente, Castro *et al.* (2006) verificaram, em um estudo caso-controle com 165 indivíduos, a associação entre fatores psicossociais (ansiedade e depressão) e a periodontite. Os autores mostraram que não houve associação significativa entre periodontite e os fatores analisados.

A relação entre o transtorno depressivo e o resultado da terapia periodontal foi verificada por Elter *et al.* (2002). Os autores examinaram 697 indivíduos (12% destes com depressão) nos anos de 1996, 1997 e 1998. Os resultados mostraram que os indivíduos com depressão tiveram resultados pós-terapia menos favoráveis, em comparação com aqueles sem depressão.

Investigando a associação entre PC e eventos psicossociais, porém, utilizando o modelo de PE em ratos, Breivik *et al.* (2005); Breivik *et al.* (2006); Breivik *et al.* (2006) demonstraram que o estresse, a ansiedade e a depressão podem alterar as respostas do sistema imune aos desafios antigênicos e influenciar a suscetibilidade/resistência a desordens inflamatórias, como a periodontite. Na opinião de Peruzzo *et al.* (2004) os estudos

relacionados a fatores psicossociais são de realização difícil, principalmente, pela dificuldade de se quantificar e qualificar esses transtornos. Pode ser observado que situações de enorme dificuldade para uns pode ser facilmente tolerada por outros e isto pode modificar o processo saúde-doença periodontal. Klokkevold e Mealey (2007) enfatizaram que tanto os eventos da vida estressantes quanto a personalidade e habilidades de enfrentamento do indivíduo são fatores a considerar na avaliação do risco de destruição pela doença periodontal e do potencial de terapia periodontal bem-sucedida. Por sua vez, Susin (2007) enfatizou que a depressão e o estresse são conhecidos fatores de risco para uma série de doenças e condições na área médica, entretanto, sua relação com as doenças periodontais ainda não está bem estabelecida.

- **Tratamento farmacológico da depressão – antidepressivos**

O tratamento farmacológico da depressão divide-se em três fases: aguda, continuação e manutenção. A primeira visa à remissão dos sintomas depressivos no menor tempo possível, restaurando o funcionamento psicossocial; a fase de continuação objetiva a prevenção de recaídas e recuperação do funcionamento psicossocial; e, por sua vez, a manutenção prima pela prevenção de recorrência de novas fases depressivas (MORENO, 2003).

Os antidepressivos são um grupo heterogêneo de medicamentos que aumentam o tônus psíquico, melhorando o humor e, conseqüentemente, a psicomotricidade. São usados na intenção principal de levar à remissão sintomática e à prevenção de novos episódios de depressão, todavia, muitos desses fármacos são eficazes também no tratamento de vários transtornos de ansiedade e em outras condições psiquiátricas ou médicas, por exemplo, a enxaqueca. Na escolha do antidepressivo, deve-se enfatizar o uso de medicamentos com eficácia comprovada, tolerabilidade e segurança (BERNIK, 2003).

A ação destes agentes ocorre em sítios específicos no cérebro e na maioria dos casos o mecanismo de ação não é bem conhecido, contudo, essas substâncias influenciam a atividade das aminas bioativas que atuam no sistema nervoso central - SNC como neurotransmissores, particularmente a serotonina, a noradrenalina e a dopamina (BERNIK, 2003). A maioria dos fármacos com atividade antidepressiva apresenta uma característica comum de aumentar a concentração extracelular de serotonina e noradrenalina ou norepinefrina, mediante a inibição de suas recaptações ou degradações - hipótese monoaminérgica (SCHILDKRAUT, 1965; CASTRÉN, 2005).

Os antidepressivos costumam ser classificados convencionalmente ou pela sua estrutura química ou pelo seu mecanismo de ação. Os tricíclicos (ADTs) e tetracíclicos formam uma das classes mais antigas, contudo, são amplamente recomendados. Caracterizam-se por sua estrutura química com anéis de três ou quatro carbonos que inibem a recaptção celular da serotonina e norepinefrina, além de modificar a sensibilidade dos receptores pré e pós-sinápticos, tendo como efeito final o aumento da biodisponibilidade dessas monoaminas em diferentes áreas do SNC (a imipramina é considerada a substância padrão-ouro, desse grupo); os inibidores da monoamino oxidase (IMAO), os quais aumentam os níveis de catecolaminas, são citados como fármacos relativamente isentos de efeitos colaterais, se comparados aos ADTs, sendo disponível no Brasil apenas a tranilcipromina. As mais recentes gerações de antidepressivos incluem os inibidores seletivos da recaptção da serotonina - ISRSs (fluoxetina, paroxetina, citalopram) e os inibidores seletivos da recaptção da serotonina (5-HT) e da noradrenalina (NA) - IRSNs (venlafaxina, duloxetina) [(BERNIK, 2003; VENLAFAXINA, 2008)].

Estudos recentes demonstram um efeito dos ISRSs, e da depressão sobre a densidade óssea mineral. Os transportadores de serotonina estão localizados nos SNC e periférico, incluindo osso. Os ISRSs parecem ter efeito em ambos. No SNC, esses medicamentos aumentam os níveis extracelulares de serotonina, aliviando os sintomas da depressão. No metabolismo ósseo, a natureza bioquímica específica de vias serotoninérgicas e seus efeitos diretos e/ou indiretos ainda não estão bem esclarecidos (HANEY; WARDEN; BLIZIOTES, 2009). Estudos sugerem que o 5-HT influencia as células ósseas levando à redução da formação óssea pelo aumento na liberação de prostaglandina E₂, pela inibição da liberação de óxido nítrico (WESTBROEK *et al.*, 2001), ou ainda pela diminuição da proliferação dos osteoblastos (YADAV *et al.*, 2008). Por sua vez, a depressão pode induzir à perda óssea e fraturas osteoporóticas, principalmente, via mecanismos específicos imunológico e endócrino (CIZZA; PRIMMA; CSAKO, 2009).

Venlafaxina é um antidepressivo com uma estrutura química diferente da dos tricíclicos clássicos, tetracíclicos e outros agentes antidepressivos conhecidos. É uma feniletilamina bicíclica e quimicamente denomina-se 1-2 dimetilamino-1-4-metoxifeniletilciclohexano (VENLAFAXINA, 2008). Figura 1.

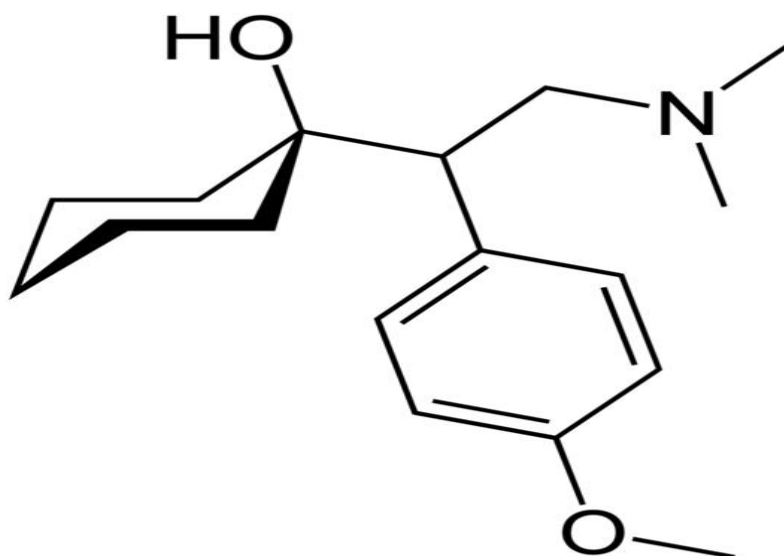


Figura 1- Estrutura química da venlafaxina: 1-2-dimetilamino-1-4-metoxifeniletil-ciclo-hexano. Fórmula molecular C₁₇H₂₇NO₂.

Fonte: winkimedia.org/wiki/venlafaxina

A venlafaxina é um potente e ativo inibidor da recaptação de aminas no neurônio pré-sináptico e, além de inibir a recaptação da serotonina age sobre a noradrenalina e, em menor grau sobre a recaptação da dopamina (FEIGHNER, 1994; ROCKVILLE, 1994; LEMKE, 2007). Não gera efeitos significativos no nível autônomo, nem anticolinérgicos, hipnosedativos ou cardiovasculares (BERNIK, 2003; VENLAFAXINA, 2008). Seu mecanismo de ação lembra o de outros antidepressivos conhecidos (fluoxetina, paroxetina), já que está diretamente associado à potencialização da atividade neurotransmissora no SNC. É absorvida oralmente, atingindo o pico plasmático em duas horas após a ingestão e o equilíbrio plasmático em três dias, apresentando baixa ligação com proteínas (FEIGHNER, 1994; CORDIOLI *et al.*, 2000).

De Oliveira *et al.* (2004) avaliaram em ratas os efeitos da venlafaxina na ansiedade, depressão, massa corporal e níveis de monoaminas produzidos pela privação do sono (REMs). Os resultados desse estudo mostraram que os efeitos provocados pela privação do sono (ansiedade, depressão e perda de peso) podem ser revertidos pelo tratamento com esse fármaco, provavelmente, pela interferência dos sistemas dopaminérgico ou serotoninérgico.

Os efeitos analgésico, anti-inflamatório e antioxidante dos antidepressivos são motivo de investigação. Kubera *et al.* (2004) salientaram que a atividade terapêutica dos antidepressivos estava ligada ao seu efeito modulatório sobre o sistema de resposta inflamatória e imunidade mediada por células. Nesse estudo, os autores mostraram o efeito estimulatório de antidepressivos, como, a imipramina, fluoxetina e a venlafaxina na produção de IL-6, citocina envolvida com a reabsorção óssea, cujos níveis variam consideravelmente com fatores psicossociais (ansiedade e estresse), com a idade e a condição da doença (TIPTON *et al.*, 2003). Gultekin e Almedow (2006) analisaram a atividade analgésica da venlafaxina e observaram que esse efeito era particularmente mediado pelo sistema opióide. Baseado nesses resultados, os autores sugeriram o uso de analgésicos opióides com a venlafaxina no tratamento de dor severa como a do câncer. O efeito anti-inflamatório da venlafaxina foi observado por Vollmar *et al.* (2008) em um modelo de cultura de célula. Os dados desse estudo indicaram claramente que as propriedades anti-inflamatórias da venlafaxina poderiam ser resultantes da imunomodulação mediada pela monoamina, e isso poderia expressar um novo caráter na relação entre neuroinflamação e outros processos patogênicos do SNC. Posteriormente, Vollmar *et al.* (2009) mostraram em ratos no modelo experimental de encefalite autoimune (modelo de esclerose múltipla), propriedades imunomoduladoras da venlafaxina.

Em relação ao efeito antioxidante dos antidepressivos, estudos realizados em ratos por Eren *et al.* (2007); Zafir e Banu (2007) demonstraram que tanto a venlafaxina como a fluoxetine apresentaram efeitos antioxidantes. Recentemente, Kumar e Garg (2008) verificaram que o tratamento com venlafaxina causou restauração da glutatona e da atividade da catalase, atenuou o aumento da peroxidação lipídica e os níveis de nitrito, mostrando um potencial papel dessa substância contra prejuízos oxidativos.

A eficácia clínica da venlafaxina é testada em indivíduos severamente deprimidos, em indivíduos com perfil melancólico de depressão, depressão geriátrica, em depressões acompanhadas de ansiedade, depressão refratária, deficit de atenção e hiperatividade (FEIGHNER, 1994; LECRUBIER *et al.*, 1997; FEIGHNER *et al.*, 1998; KELLER *et al.*, 2007; NIERENBERG *et al.*, 1994; IBOR *et al.*, 2008; STAHL; AHMED; HAUDIQUET, 2007). Os efeitos adversos mais comuns incluem náusea, sonolência, insônia, ansiedade e secura da boca, mas em geral, a tolerância clínica ao fármaco é boa e a incidência desses efeitos é baixa (3%) [(VENLAFAXINA, 2008)].

Muitas vezes a psicofarmacologia deve ser complementada por abordagens psicossociais, enfocando os funcionamentos sociais, ocupacionais e vocacionais. Não existe o antidepressivo ideal, e a indicação de um ou de outro como primeira escolha para o início do tratamento dependerá das características do paciente e do perfil de efeitos colaterais mais toleráveis por esse (BERNIK, 2003). A prática do exercício físico aeróbio no tratamento da depressão foi observada por Dunn *et al.* (2005). Os autores enfatizaram que uma das possíveis explicações para essa eficácia seja o aumento da neurogênese dos indivíduos.

2.1.5 Antidepressivos, antioxidantes e PC

Diversas substâncias são utilizadas em pesquisa periodontal na busca de prevenir ou inibir a perda óssea alveolar - POA (BEZERRA *et al.*, 2000; LIMA *et al.*, 2000, 2004; DI PAOLA *et al.*, 2004; LEITÃO *et al.*, 2004, 2005; CAMILOTTI *et al.*, 2005; MENESES *et al.*, 2005; BREIVIK *et al.*, 2005; BREIVIK *et al.*, 2006; BREIVIK *et al.*, 2006; BOTELHO *et al.*, 2007; HOLANDA PINTO *et al.*, 2008). Dentre essas, destaca-se a tianeptina, um antidepressivo com mecanismo de ação atípico, voltado para a indução da recaptção pré-sináptica de serotonina, pelos neurônios do córtex, do hipocampo e do sistema límbico, promovendo a recaptção de serotonina, normalizando a neurotransmissão serotoninérgica (BERNIK, 2003, TIANEPTINA, 2008, UZBAY, 2008; UZBEKOV, 2009). Esse fármaco foi utilizado por Breivik *et al.* (2006) para investigar a comunicação entre o cérebro e o sistema imune na suscetibilidade e progressão da periodontite. Os achados desse estudo demonstraram que o tratamento com essa substância inibiu significativamente a POA, normalizou a resposta comportamental, melhorou os níveis de TGF-1 β e reduziu a citocina pró-inflamatória TNF- α .

A vitamina E (alfa-tocoferol), única forma que está ativamente mantida no organismo-sangue e nos tecidos) é o maior antioxidante lipossolúvel presente em todas as membranas celulares e, portanto atua na proteção contra a lipoperoxidação (KAY *et al.*, 1986). Essa substância é utilizada em pesquisa periodontal, sendo-lhe atribuída funções antioxidante, anti-inflamatória e estimuladora da resposta imune-humoral. De acordo com Beck *et al.*, (1994), a vitamina E age como catador livre de radicais livres - RL, podendo substituir a enzima peroxidase de glutathione na decomposição desses radicais. Sheikhi *et al.* (2001) demonstraram que a produção de superóxido por neutrófilos foi reduzida após a adição de vitamina E. Outros estudos mostraram propriedades anti-inflamatórias, as quais foram observadas pela redução da inflamação dos tecidos (COHEN; MEYER, 1993; HALLIWELL,

1994; BATTINO *et al.*, 1999; BATTINO *et al.*, 2005) sendo ainda citada como um específico e efetivo estimulador da resposta imune humoral, estimulando o desenvolvimento primário e/ou a proliferação de células produtoras de anticorpos (TENGERDY *et al.*, 1973).

Azzi *et al.* (2004) enfatizaram que a vitamina E pode agir por mecanismos de transdução de sinal mediado por proteína quinase C e fosfatidilinositol-3-quinase e assim está envolvida na regulação da expressão gênica. Neste sentido já foi demonstrado que um decréscimo no conteúdo de vitamina E, modifica a expressão de vários genes no cérebro, causando mudanças na plasticidade neuronal (GOHIL *et al.*, 2003). Recentemente, foi demonstrado em ratos que a vitamina E pode ter exercer uma ação anabólica sobre o osso (SHUID *et al.*, 2009). A vitamina E é formada por dois grupos de elementos, constituídos de uma família de oito antioxidantes. Figuras 2 e 3.

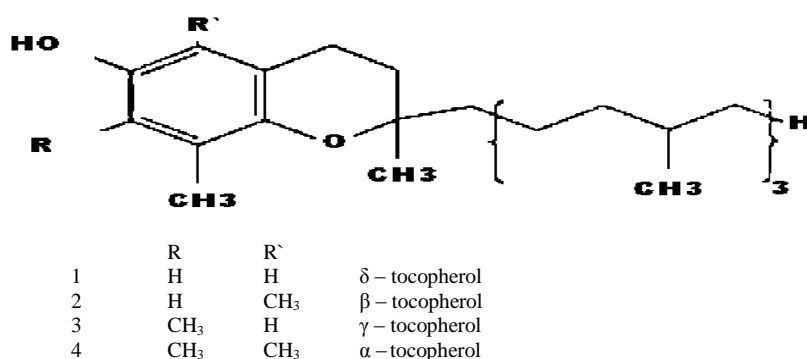


Figura 2 - Estrutura da vitamina E: estrutura molecular dos tocoferóis.

Fonte: http://www.dq.fct.unl.pt/qoa/qpn2_2001/vitamina E

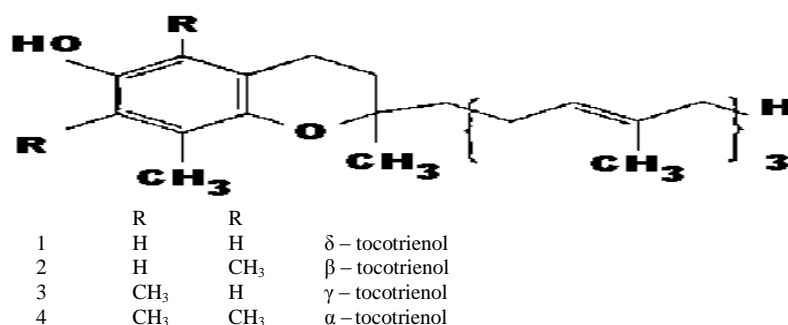


Figura 3 - Estrutura da vitamina E: estrutura molecular dos tocotrienóis.

Fonte: http://www.dq.fct.unl.pt/qoa/qpn2_2001/vitamina E

Schneider e Pose (1969), em um estudo caso-controle, verificaram a influência do α -tocoferol no periodonto de ratas alimentadas em uma dieta com carência dessa vitamina. Os resultados desse estudo mostraram que a deficiência de vitamina E pode afetar os parâmetros da DP avançada.

Parrish, DeMarco e Bissada (1977) demonstraram em ratos albinos que a deficiência de vitamina E não contribuiu para o aumento de destruição do periodonto, sugerindo não existirem efeitos terapêuticos benéficos com o uso de vitamina E no combate à periodontite. Por outro lado, Cohen e Meyer (1993), em um estudo com ratos Rice submetidos a estresse, demonstraram que uma dieta com suplementação de vitamina E pode diminuir a POA, contudo, o mecanismo protetor dessa substância não foi claramente identificado, o qual poderia estar relacionado a atividades antioxidante, imunoestimulante ou a outras. Segundo Kappus e Diplock (1992), a vitamina E tem a grande vantagem de apresentar baixa toxicidade em doses diárias de até 800 mg, não induzindo efeitos adversos em humanos.

2.2 Doença periodontal e estresse oxidativo

Quando o organismo é exposto ao estresse habitual, o corpo é alvo de adaptações para recuperar a homeostase, por meio do desenvolvimento de um sistema de defesa antioxidante para combater radicais livres – RL [(ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), óxido nítrico (NO)], protegendo as células da toxicidade. Dessa forma, qualquer estímulo que leve à produção excessiva de RL e ou à depleção de antioxidante conduz a uma alteração significativa do balanço entre a produção e remoção desses radicais (DRÖGE, 2002; VANCINI *et al.*, 2005).

RL são formados normalmente no organismo durante a atividade metabólica e também sobre a exposição a fatores ambientais, como o fumo ou poluentes. A rápida interação desses radicais com proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos resultam na oxidação dessas substâncias com perda total ou parcial das suas funções, o que pode acarretar destruição de células e desgastes teciduais com consequentes processos patológicos (BERNAD, 2000; HELUY; NAIDU, 2005). O efeito prejudicial dos RL ocorre quando esses estão em quantidade excessiva no organismo, ultrapassando a capacidade desses de neutralizá-los com os seus sistemas naturais (KUSS, 2005). Seus efeitos lesivos podem ser vistos por meio de uma variedade de mecanismos como: i) alteração no DNA, cuja oxidação poderá acarretar processos mutagênicos e carcinogênicos; ii) ionização direta do óxido nítrico,

resultando na formação de um ânion instável e tóxico; iii) ativação de citocinas como as interleucinas pró-inflamatórias, que podem perpetuar a inflamação (IL-1, IL-8) e iv) por inativação de enzimas (BERNAD, 2000; GILKUN-SHERKI *et al.*, 2002; SCANDALIOS, 2005; WANG *et al.*, 2006).

Outras espécies igualmente reativas quanto os RL, porém, sem possuir o elétron não pareado na última camada – não podendo, dessa forma, ser classificadas como tais – são as espécies reativas de oxigênio – EROs [exemplos: peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e o ânion nitroxila – NO] (DRÖGE, 2002). As EROs são consideradas como importantes moléculas sinalizadoras na regulação de vários processos celulares. Elas podem ser geradas pelo transporte de elétrons mitocondrial, cadeia de mitocôndrias e ativação de leucócitos polimorfonucleares (PMN) em condições inflamatórias. O excesso na geração desses compostos pode resultar no ataque e danos da maior parte dos componentes extracelulares e intracelulares em um organismo vivo. Além disso, as EROs podem diretamente induzir e/ou regulamentar a morte celular por apoptose com necrose secundária (CHAPPLE, 1997; JARNBRING *et al.*, 2002). Outro estudo demonstrou *in vitro* que as EROs são capazes de degradar proteoglicanos do osso alveolar (MOSELEY *et al.*, 1998).

O desequilíbrio entre a geração de EROs e a remoção dessas pelo sistema de defesa antioxidante é denominado de estresse oxidativo – EO, o qual é visto como uma condição celular ou fisiológica de elevada concentração de EROs que causa danos moleculares às estruturas celulares, com a consequente alteração funcional e prejuízo das funções vitais em diversos tecidos e órgãos; além de comprometer a competência imunológica, o que facilita a instalação e atividade dos agentes microbianos patogênicos (BECK; HAND; LEVANDER, 2000; DRÖGE, 2002). Seus efeitos deletérios podem variar consideravelmente entre indivíduos, de acordo com a idade, o estado fisiológico e a dieta (NIESS *et al.*, 1999), hábitos (uso de álcool, tabagismo, dentre outros), condições ambientais impróprias (poluição) e até mesmo o envelhecimento (DRÖGE, 2002).

A prevenção da formação de EROs inclui mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. O mecanismo antioxidante enzimático é constituído por enzimas envolvidas na proteção primária do organismo humano. Como exemplos podem ser citadas a enzima superóxido dismutase (SOD), considerada a mais abundante no organismo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989), a glutatona (peroxidase, redutase) e a catalase. Essas

enzimas têm a função de manter a concentração de EROs dentro dos limites fisiológicos. Os antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria, são exógenos, ou seja, necessitam ser absorvidos pela alimentação apropriada. Os principais antioxidantes não enzimáticos podem ser divididos em: vitaminas lipossolúveis (vitamina A, vitamina E-tocoferol, beta-caroteno); vitaminas hidrossolúveis (vitamina C, vitaminas do complexo B), os oligoelementos (zinco, cobre, selênio, magnésio) e os bioflavonóides (derivados de plantas) (STIPANUK, 2000; KUSS, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2005).

Enfermidades neurodegenerativas e inflamatórias, câncer deficiências nutricionais, diabetes e algumas desordens psiquiátricas podem estar envolvidas com EO (ATAMACA *et al.*, 2004; SHIRAI *et al.*, 2005; OHNISHI *et al.*, 2009). Outras investigações demonstraram também os efeitos do EO no desenvolvimento da DP. Triana, Bernabeu e Febles (2002) enfatizaram que investigações sobre a possível participação do EO na patogenia da doença periodontal inflamatória e sua relação com outras enfermidades sistêmicas poderiam ter um profundo impacto na qualidade da saúde oral e geral dos indivíduos. O estabelecimento de terapias antioxidantes ajuda a atenuar ou eliminar a completa rede de interações patológicas que se possa estabelecer, enfatizaram os autores. Sculley e Langley-Evans (2003) observaram em pacientes portadores de gengivite e/ou periodontite que a DP estava relacionada à redução do estado antioxidativo salivar, ao mesmo tempo em que aumentava com a ocorrência de perdas oxidativas dentro da cavidade bucal. De acordo com Scandalios (2005), os microorganismos aeróbicos que causam enfermidades orais parecem ter desenvolvido alguns mecanismos enzimáticos para neutralizar os efeitos nocivos provocados por EROs, entre os quais, destacou a SOD, responsável pela conversão de ânion superóxido em H_2O_2 . Essa enzima age como antioxidante “preventivo”, evitando formação de radical hidroxila ($OH\bullet$).

Mais recentemente, Giannopoulou, Krause e Müller (2008) destacaram em estudo realizado *in anima nobili* a importância do EO tanto na saúde quanto na DP. De acordo com esses autores a nicotinamida adenina dinucleotide fosfato oxidase - NOX_2 , oriunda dos fagócitos é, provavelmente, uma das principais fontes de EROs nos tecidos periodontais. Nesse estudo, foi enfatizado que o mais forte envolvimento de NOX_2 , em doenças periodontais, é na periodontite agressiva, e tanto a predisposição genética quanto os microorganismos da cavidade oral podem contribuir para o aumento de geração de NOX_2 . Assim, a compreensão do envolvimento dessa enzima poderá proporcionar novas estratégias

de tratamento para a periodontite. Recentemente, Ohnishi *et al.* (2009), em um modelo animal (camundongos machos) reforçaram a noção de que EROs, como o peróxido de hidrogênio - H₂O₂, são responsáveis pela perda óssea alveolar.

Investigações tanto em humanos como em animais destacam o papel da vitamina E (α -tocoferol) na avaliação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico-TBARS, da SOD, bem como da imunomarcção para TNF- α e iNOS. Retana-Ugal *et al.* (2008) demonstraram em humanos que o uso de α -tocoferol (400 UI, seis meses), associado ao ácido ascórbico (500 mg), não alterou a formação de TBARS, e não houve diferença significativa na formação da SOD, comparado ao grupo que usou 1000 mg de ácido ascórbico com 400 UI α -tocoferol, sugerindo que essa dose não foi útil para diminuir o estresse e dano no DNA em adultos saudáveis. Por sua vez, estudo de Antoniadi *et al.* (2008) demonstrou que o uso de α -tocoferol (500 mg/dia, 12 meses) diminuiu a atividade da SOD. Os autores enfatizaram que a exata fisiopatologia desse fenômeno merece mais avaliação. Araújo (2006) avaliou em ratos a influência do estresse oxidativo no desenvolvimento da hipertrofia e insuficiência cardíaca induzida pelo hipertireoidismo, e observou que o tratamento com vitamina E (20 mg/dia, 28 dias) diminuiu a atividade da SOD. Em humanos, Devaraj *et al.* (2008) observaram que a combinação do α -tocoferol com gama-tocoferol (800 mg/dia, 6 meses) diminuiu significativamente os níveis de TNF- α . Por sua vez, Yoshida *et al.* (2008), em um estudo realizado em rato, mostraram que o uso de tocoferol suprimiu a expressão iNOS, por inibir diretamente a atividade da COX-2.

Há evidências de que o tratamento crônico com antioxidantes pode beneficiar a cognição em humanos e animais. Provavelmente, esse fato ocorra em virtude da diminuição do EO (MARTIN *et al.*, 2002), entretanto a vitamina E (alfa-tocoferol) é associada com aumento da ansiedade. Kolosova, Trofimova e Fursova (2006) observaram os efeitos da vitamina E (alfa-tocoferol) e do extrato de Whortleberry na ansiedade em ratos Wistar e Oxys. Os autores utilizaram os testes comportamentais de campo aberto e labirinto em cruz elevado. Os resultados mostraram que o extrato de Whortleberry reduziu a ansiedade em ratos Oxys. A vitamina E não alterou esse parâmetro nesses animais, contudo, houve aumento significativo da ansiedade em ratos Wistar, observada pela diminuição do número de entradas nos braços abertos e o tempo de permanência nesses. Esses resultados indicaram que a vitamina E é pouco efetiva, enquanto o extrato (Whortleberry) tem um impacto favorável nas características comportamentais e na redução da ansiedade em ratos Oxys. Recentemente, o

estudo de Hugnes e Collins (2010) mostrou também em ratos, que a vitamina E (alfa-tocoferol) parece interferir no comportamento dos animais, possivelmente, em decorrência da grande ansiedade que pode acompanhar a sua ação. Os autores utilizaram testes comportamentais (campo aberto e transição claro-escuro) e enriquecimento ambiental (objetos escolhidos para incentivar a manipulação, a atividade física e a exploração dos animais).

2.3 Modelo animal para o estudo da doença periodontal

Vários modelos humanos e animais são empregados em benefício de um melhor entendimento da etiopatogênese da DP, bem como na avaliação de suas modalidades terapêuticas. A realização de modelos confiáveis em humanos, no entanto, é bastante complexa. Socransky e Haffajee (2005) enfatizaram a existência de cerca de 500 espécies diferentes de microorganismos capazes de colonizar a cavidade bucal, sendo que qualquer indivíduo pode abrigar 150 ou mais espécies diferentes; além disso, os inúmeros fatores de risco, sociais, comportamentais e sistêmicos, associados à DP, podem interagir e modificar o curso clínico dessa patologia, em virtude da complexa interação das bactérias e a resposta do hospedeiro, recebendo influência ainda de fatores genéticos e ambientais. Publicação mais recente salientou que cerca de 600 espécies bacterianas podem ser detectadas em amostras de cavidade bucal humana (TERRERI *et al.*, 2009).

Considerando as observações há pouco mencionadas e em virtude de implicações éticas e custos elevados para a realização de estudos em humanos que visem a constatar a plausibilidade dos possíveis processos biológicos envolvidos no biônimo saúde-doença, outras formas de aquisição de conhecimento tornaram-se necessárias. Essa necessidade fez crescer a procura por modelos laboratoriais e em animais, tentando mimetizar o que possivelmente ocorre no ser humano (SUSIN; ROSING, 2001). Corroborando com o mesmo pensamento, Chorilli, Michelin e Salgado (2007) enfatizaram que a experimentação animal contribui sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres humanos.

Dentre os modelos utilizados na PC para indução da perda óssea alveolar em rato, destacam-se: i) o modelo de periodontite induzida por colocação de ligadura, utilizado por

vários pesquisadores (SALLAY *et al.*, 1982; LIMA *et al.*, 2000; NOCITI *et al.*, 2000; NOGUEIRA-FILHO *et al.*, 2004; KUHR *et al.*, 2004; RIVALDO; PADILHA; HUGO, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2007; AZOUBEL *et al.*, 2007; BEZERRA *et al.*, 2009); ii) o modelo por inoculação de toxinas bacterianas-lipopolissacarídeos (LLAVANERAS *et al.*, 1999; DUMITRESCU *et al.*, 2004; WADA *et al.*, 2004); iii) com introdução de microorganismos patogênicos (JORDAN; KEIS; BELLACK, 1972;); e iv) por manipulação na dieta (ROBINSON; HART; PIGOTT, 1991; GALVÃO *et al.*, 2003).

Em pesquisa periodontal, o cão beagle, o primata e o rato são os espécimes mais usados para o estudo da etiologia, patogênese e terapia de doenças periodontais inflamatórias crônicas. Dentre os animais citados, o rato (*Rattus norvegicus*) é o mais comumente empregado por constituir alternativa barata, de fácil obtenção e manuseio, o que propicia a utilização de grandes amostras. Além disso, existe entre esse animal e o homem uma similaridade anatômica, imunológica e bioquímica dos tecidos periodontais, bem como uma semelhança histopatológica e, em parte, microbiológica, no que diz respeito às doenças periodontais, podendo ser criado em condição livre de germes, favorecendo a indução de imunodeficiência (KLAUSEN, 1991; SUSUN; RÖSING, 2001).

A anatomia dentária é composta por quatro dentes incisivos, que apresentam crescimento contínuo e não têm raízes e, doze molares, em número de três em cada hemiarcada, com epitélios gengival, sulcular e oral, fibras colágenas, cemento celular e acelular e osso alveolar, semelhantes aos dentes dos humanos, existindo apenas uma diferença, o epitélio sulcular gengival do rato, que é queratinizado (PAGE; SCHROEDER, 1982; KLAUSEN, 1991). Figura 4.

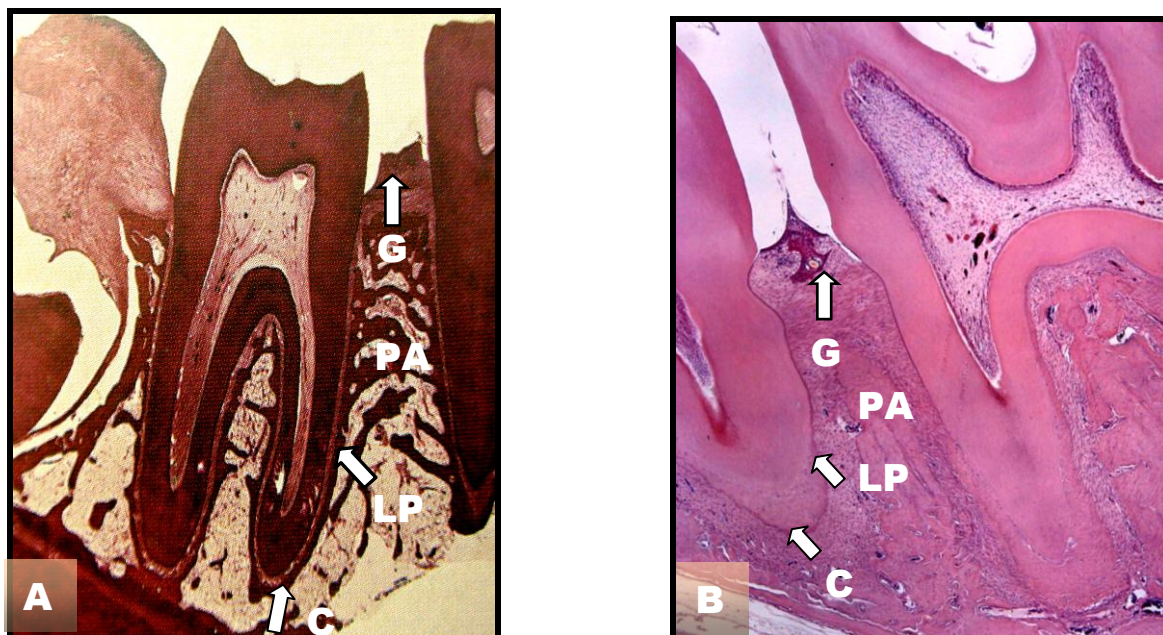


Figura 4 – (A) Fotografia do dente humano com suas estruturas, fonte: Fiorellini, Kim e Ishikawa (2007); (B) Fotomicrografia do periodonto de dente de rato: G (gingiva); PA (processo alveolar); LP (ligamento periodontal); C (cimento).

Fonte: dados da pesquisa com utilização de microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000).

2.4 Mensuração da perda óssea alveolar induzida por ligadura

Métodos morfométrico e histométrico são aplicados para a mensuração da perda alveolar associada à colocação de ligadura em rato e, embora não esteja estabelecida na literatura qual a melhor forma de avaliar os tecidos periodontais, na maioria dos trabalhos, a avaliação histológica é a mais utilizada. Essa avaliação pode ser realizada de forma linear (CRAWFORD; TAUBMAN; SMITH, 1978; SALLAY *et al.*, 1982; LIMA *et al.*, 2000; SUSIN; ROSING, 2003; CAVAGNI *et al.*, 2005) ou poderá corresponder a uma área (mm²) (NOCITI *et al.*, 2000; NOGUEIRA-FILHO *et al.*, 2004; KUHR *et al.*, 2004; RIVALDO; PADILHA; HUGO, 2005). A perda óssea alveolar tem sido avaliada também através de análise radiográfica (CAMIOTTI *et al.*, 2005; BREIVIK *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2007).

Recentemente, foram comparadas medidas da altura óssea na periodontite induzida por ligadura em ratos por intermédio da mensuração histológica e morfométrica. Os

resultados desse estudo mostraram que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois métodos de detecção da altura óssea alveolar associada a esse modelo. Na avaliação histométrica, entretanto, o plano de corte pode eventualmente não corresponder à zona de maior perda óssea, enquanto na avaliação morfométrica o ponto com maior perda óssea em maxilas ou mandíbulas descarnadas pode ser visualizado (FERNANDES *et al.*, 2007).

2.5 Modelos para avaliação comportamental

2.5.1 Ansiedade

Vários modelos animais são sugeridos para o estudo da ansiedade, destacando-se aqueles baseados em aprendizagem associativa – resposta de sobressalto intensificada pelo medo; os testes do conflito do beber punido e o da punição de pressão à barra e, os modelos baseados em medos inatos ou etnologicamente fundamentados – transição claro-escuro, interação social, interação presa-predador e labirinto em cruz elevado, os quais procuram atender de maneira mais satisfatória o critério de semelhança fenomenológica nas investigações atuais da ansiedade, além de serem de baixo custo operacional e não requisitarem o treino ou a modelagem do comportamento do animal. O modelo labirinto em cruz elevado é o modelo animal de ansiedade atualmente mais utilizado nas investigações dos substratos neurais da ansiedade e nos estudos sobre os mecanismos de ação de fármacos que atuam nos transtornos de ansiedade (HANDLEY; MITHANI, 1984; PELLOW *et al.*, 1985; HÉLIO, 1997).

Handley e McBlane (1993) salientaram que o maior problema associado ao uso do labirinto em cruz elevado como modelo animal de ansiedade está na falta de previsibilidade da resposta farmacológica para ansiolítico de ação serotoninérgica. A administração de substâncias serotoninérgicas (buspirona e a ritanserina, como exemplos) causou efeitos ansiolíticos e ansiogênicos.

2.5.2 Depressão

O esclarecimento dos mecanismos neuroquímicos da depressão é, como em outras áreas da psicofarmacologia, limitado pela carência de bons modelos animais dessa enfermidade clínica. Em parte isso é consequência da dificuldade de se reproduzir, em

modelos animais, as alterações de humor típicas da condição humana. Além disso, esses experimentos com frequência necessitam de protocolos experimentais caros (RANG *et al.*, 2004). Vários modelos animais, no entanto, foram descritos nas pesquisas que objetivaram o estudo dessa doença, tais como: o modelo nado forçado, caracterizado como uma situação inescapável de estresse, que consiste em submeter o animal, individualmente, a um período de natação. A latência para ficar imóvel (ou o tempo total de imobilização) é registrada. Um aumento no tempo de imobilização é um indicativo do estado depressivo do animal (PORSOLT *et al.*, 1978); a imposição de estímulos dolorosos repetidos inescapáveis leva ao estado de “abandono aprendido”, no qual, mesmo quando o animal está livre para escapar, ele não o faz; a separação da mãe e do filho em macacos e a administração de fármacos depletors de amins, como a reserpina, também produzem estados que superficialmente lembram a depressão humana (Mc KINNEY, 1984; RANG *et al.*, 2004).

3 JUSTIFICATIVA

A DP é reconhecida como doença inflamatória-imunológica dos tecidos de proteção e suporte dos dentes, causada por microorganismos patogênicos que colonizam a superfície dentária supra ou subgingivalmente, apontada como a maior responsável pela perda dentária em adulto. Por sua vez, a depressão, considerada um dos transtornos psiquiátricos mais comuns, apresenta sintomatologia sutil e início relativamente precoce. Sua causa está atribuída a múltiplos fatores sociais, psicológicos e profissionais, apresentando grande vulnerabilidade genética, sendo precipitada ou agravada por eventos negativos da vida.

A literatura demonstra que algumas substâncias (antidepressivo e antioxidante) inibiram a perda óssea alveolar. Com suporte nessa informação, este ensaio objetivou avaliar se a venlafaxina, um antidepressivo, com mecanismo de ação associado à potencialização da atividade neurotransmissora no SNC, inibindo a recaptção da serotonina, da noradrenalina e, em menor grau, da dopamina, protegeria a perda óssea alveolar (POA) decorrente da doença periodontal experimental (PE).

A vitamina E, considerada uma substância antioxidante, é utilizada na terapia e prevenção das doenças periodontais, contudo, a literatura revela conclusões contraditórias quanto ao benefício do seu uso nos tecidos periodontais. De tal maneira, esta pesquisa se tornou necessária para uma melhor elucidação do papel dessa vitamina no periodonto.

A relevância deste estudo decorre do fato de que tanto a PC como a depressão acometem milhões de pessoas em todo o mundo, apresentando consequências importantes na função social e na qualidade de vida desses indivíduos. Além disso, ambas constituem um problema de saúde pública, sendo necessários investimentos prioritários em políticas públicas de saúde que visem à prevenção dessas doenças.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar os efeitos da venlafaxina e da vitamina E na periodontite experimental induzida por ligadura em ratos. Avaliação do estado de ansiedade, depressão e perda óssea alveolar.

4.2 Específicos

Avaliar os efeitos da venlafaxina e da vitamina E, no modelo de periodontite experimental induzida por ligadura em ratos, como inibidoras do estado de ansiedade;

Mensurar os efeitos da venlafaxina e da vitamina E, no modelo de periodontite experimental induzida por ligadura em ratos, como inibidoras do estado depressivo;

Estimar os efeitos da venlafaxina e da vitamina E, no modelo de periodontite experimental induzida por ligadura em ratos, como inibidoras da perda óssea alveolar;

Aquilatar o estresse oxidativo, no modelo de periodontite experimental induzida por ligadura em ratos, por meio da determinação da peroxidação lipídica (TBARS) e da dosagem da enzima superóxido dismutase (SOD); e

Ponderar a participação de TNF- α e iNOS no modelo de periodontite experimental induzida por ligadura em ratos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), com massa corpórea entre 180-220 gramas, provenientes do biotério central do *Campus* do Pici, da Universidade Federal do Ceará (UFC) e transferidos para o biotério setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas apropriadas, forradas com raspas de madeira, em média seis (n= seis) animais em cada. Todos receberam ração comercial balanceada e água à vontade e permaneceram nas mesmas condições ambientais durante os experimentos.

O protocolo experimental sob o número de registro 052/07 foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, em reunião realizada em 11 de abril de 2007, estando de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Neurociências e Comportamento, na Sala de Comportamento, no Laboratório de Neurofarmacologia, no Laboratório de Produtos Naturais, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará. As lâminas histológicas foram preparadas e montadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da UFC e a sua leitura foi realizada no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará.

5.2 Fármaco e antioxidante

5.2.1 Venlafaxina cloridrato

Venlafaxina cloridrato (Efexor XR 75 mg, cápsula, Wyeth-Whitehall, Brasil). A cápsula foi triturada em um grau com a ajuda de um pistilo, para melhor solubilização da

substância em água destilada (veículo). Para a administração de venlafaxina nos animais que receberam 10 mg/kg, a solução final foi 2 mg/mL e 8 mg/mL para aqueles que receberam a dose de 50 mg/kg. A administração (via oral, gavagem) do veículo ou do fármaco foi realizada 1 hora antes da indução da PE e, diariamente, durante nove dias. O mesmo horário de administração foi mantido durante todo o experimento. A dose de 10 mg/kg foi baseada no trabalho de Oliveira *et al.* (2004). A dose de 50 mg/kg foi utilizada para avaliar a resposta terapêutica diferenciada em relação à dose de 10 mg/kg, já utilizada na literatura.

5.2.2 Vitamina E

Vitamina E (400 UI cápsula, acetato de DL-alfa tocoferil, Nutro Laboratories, Inc. E.U.A.). A cápsula foi misturada com óleo de canola (veículo) Purilev, Cargill Agrícola S.A., Brasil, obtendo uma solução de concentração de 200 mg/mL. A dose foi de 500 mg/kg administrada via oral (gavagem), uma hora antes da indução da periodontite experimental e, diariamente, durante nove dias. Foi mantido o mesmo horário de administração da substância durante todo o experimento.

5.3 Sedação e anestesia

Cloridrato de Xilazina 2% (Kensol[®] Laboratórios König S.A, Argentina) e Cloridrato de Ketamina 5% (Vetanarcol[®], Laboratórios König S.A, Argentina) nas doses 10 mg/kg e 60 mg/kg, respectivamente.

5.4 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em dez grupos (n= 10, em cada um). A distribuição dos grupos foi feita de forma randômica. Os grupos foram utilizados tanto para avaliar a PE como os estados de ansiedade e depressão. Os animais foram pesados antes do início da indução da doença e a cada três dias (1^o-11^o- último dia). Quadro 1.

GRUPOS	TRATAMENTOS – via oral
1 FO (trajetória com a agulha)	Água (veículo da venlafaxina)
2 PE (ligadura – fio de náilon)	Água (veículo da venlafaxina)
3 FO	Venlafaxina 10 mg/kg
4 PE	Venlafaxina 10 mg/kg
5 FO	Venlafaxina 50 mg/kg
6 PE	Venlafaxina 50 mg/kg
7 FO	Óleo (veículo da vitamina E)
8 PE	Óleo (veículo da vitamina E)
9 FO	Vitamina E 500 mg/kg
10 PE	Vitamina E 500 mg/kg

FO (falso - operado)

PE (periodontite experimental)

Quadro 1 – Grupos e tratamentos

Fonte: dados da pesquisa.

5.5 Desenvolvimento experimental

5.5.1 Modelo de PE induzida por ligadura em rato

Inicialmente os animais foram pesados para proporcionar corretamente a dose do anestésico administrado. Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal (i.p), com solução de Cloridrato de Xilazina 2% (Kensol[®] Laboratórios König S.A, Argentina) e Cloridrato de Ketamina 5% (Vetanarcol[®], Laboratórios König S.A, Argentina) nas doses 10 mg/kg e 60 mg/kg, respectivamente. Após a anestesia, foram posicionados em mesa operatória apropriada; as arcadas foram afastadas com o auxílio de um abridor, o qual permitiu a manutenção da abertura bucal dos animais, facilitando o acesso aos dentes superiores da região posterior da maxila.

O modelo consistiu em inserir, cirurgicamente, um fio de sutura de náilon 3.0, em torno do segundo molar superior esquerdo (lado teste), de acordo com Lima *et al.* (2000), descrito a seguir: previamente à passagem do fio, com o auxílio de um porta-agulha foi passada uma agulha do tipo cardiovascular (Ethibond-Excel, Ethicon), para fazer a trajetória

(guia) nos espaços interproximais mesial e distal, respectivamente, do dente citado (Figura 5, A). Em seguida, foi passado o fio de náilon esterilizado 3.0, 45 cm, Nylpoint (Figura 5, B), de maneira a ficar ajustado nas faces vestibular e palatina do dente, estando o nó cirúrgico voltado para a face vestibular (Figura 5, C). Esta ligadura teve o objetivo de favorecer o acúmulo de biofilme subgengival e estabelecer a perda tecidual. Os dentes contra-laterais (lado direito, sem ligadura) foram usados como controle, para a mensuração da POA. Os animais foram mortos por deslocamento cervical no 11º dia da indução da PE, em razão de já ser observado neste período destruição do processo alveolar e do cemento (LIMA *et al.*, 2000). Figura 5.

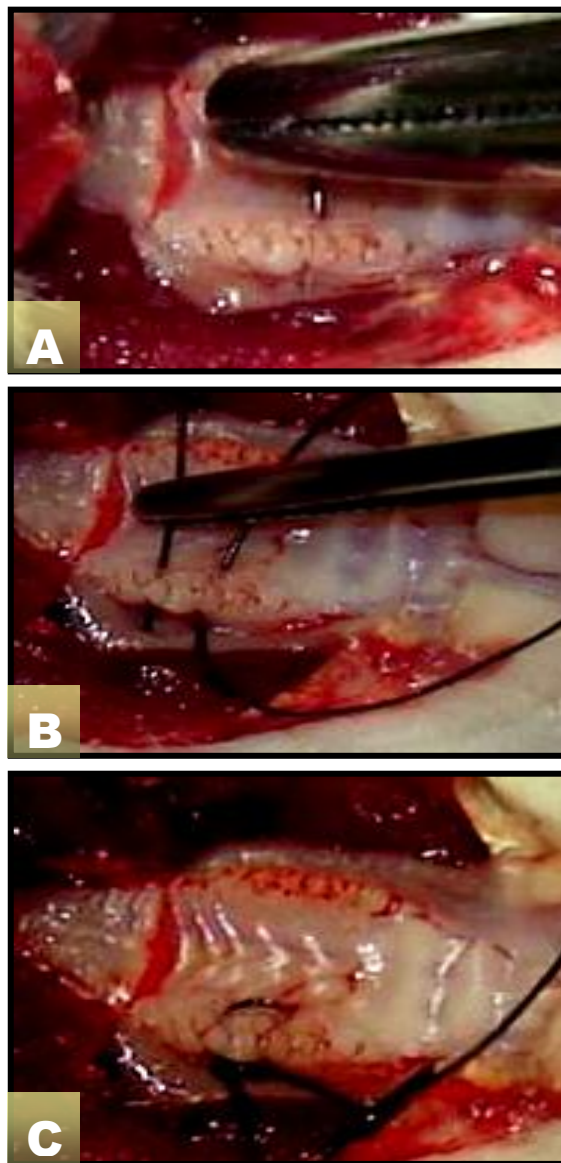


Figura 5 – Fotografias da indução da PE. (A) Guia; (B) Passagem do fio de náilon; (C) Nó cirúrgico.

Fonte: autora, com utilização de câmera digital Sony-DSC, H5.

5.6 Avaliação comportamental

5.6.1 Labirinto em cruz elevado - teste “plus maze” (PELLOW *et al.*, 1985)

Foi utilizado o modelo de labirinto em cruz elevado (LCE) que consiste em dois braços abertos opostos (48x48x12) e dois fechados (48x48x12), também opostos, em forma de cruz. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5x5 cm). A plataforma e as paredes laterais dos braços abertos e fechados são em madeira. O aparelho está elevado a uma altura de 50 cm do nível do solo e localizado em uma sala com luz vermelha (15W). Os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento foi observado por cinco minutos. Após o teste de cada animal, o aparelho era limpo com solução de etanol (20%). O teste foi realizado no 10^o dia após a indução da PE, no horário das 10 às 16 horas. Figura 6.

O número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados foram as medidas registradas. O número total de entradas foi obtido somando o número de entradas nos braços abertos e fechados. Para a análise estatística dos dados e a elaboração dos gráficos a percentagem de entradas no braço aberto foi calculada dividindo-se o número de entradas nos braços abertos pelo número total de entradas, sendo este índice multiplicado por 100. Semelhantemente, foi calculada a percentagem do tempo em que os animais permaneceram nos braços abertos em relação ao somatório do tempo de permanência nos braços abertos e fechados, sendo o quociente obtido multiplicado por 100. Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços fechados revela um efeito ansiogênico.



Figura 6 - Fotografia do aparelho labirinto em cruz elevado - LCE

Fonte: autora, com utilização de câmera digital Sony-DSC, H5.

5.6.2 Depressão - nado forçado (PORSOLT *et al.*, 1978)

O teste foi realizado no 10^o dia após a indução da PE, no horário das 10 às 16 horas. Os animais foram colocados, individualmente, em um recipiente (41 cm de altura e 37,5 cm de diâmetro, contendo 33 cm³ de água) e observados por seis minutos. O primeiro minuto foi considerado como ambientação. Figura 7.

A execução de pequenos movimentos que os impediram de submergir, e ou o tempo total de imobilização foram registrados para análise posterior. Um aumento no tempo de imobilização foi considerado um indicativo do estado depressivo do animal.



Figura 7 - Fotografia do teste do nado forçado

Fonte: autora, com utilização de câmera digital Sony-DSC, H5.

5.7 Análise da estrutura óssea alveolar

5.7.1 Análise morfométrica

Os animais foram mortos por deslocamento cervical no 11º dia da indução da PE e suas maxilas removidas e fixadas em formol a 10%, durante 24 horas. Após este período, foram colocadas em álcool etílico a 70%. Posteriormente, as maxilas de todos os animais foram separadas nas sínfises maxilares em duas hemiarcadas, dissecadas e coradas com azul de metileno a 1% para distinguir o osso dos dentes, os quais coram em menor intensidade. Para a quantificação da reabsorção óssea, as duas hemiarcadas foram acomodadas em massa de modelar colocadas em lâminas (*microscope slides*, bioslide, *Clear Glass*) e fotografadas de forma padronizada com uma câmera digital SONY–DSC - H5 (aumento de 1,5). Para minimizar eventuais erros, a câmera foi colocada em um tripé (Vanguard® VS-52) com hastes de 11 cm de altura. A lente da câmera foi posicionada perpendicularmente à mesa onde estavam sendo feitas as fotografias. O ambiente era bem iluminado e não foi utilizado *flash*.

5.7.2 Mensuração da perda óssea alveolar - POA

Para a mensuração da POA, medidas foram tomadas do longo eixo dos dentes considerando a distância da ponta da cúspide até o osso alveolar remanescente, realizadas em sete pontos diferentes de cada hemiarcadas nas faces vestibulares dos três dentes molares superiores: três medidas no primeiro molar, visto que esse dente possui três raízes, denominadas mesial (m1), média (md) e distal (d1); duas medidas no segundo (m2 e d2) e no terceiro (m3 e d3) molares, respectivamente (Figura 8). As medidas tomadas foram subtraídas daquelas realizadas nas hemiarcadas contralaterais (controle). Essa diferença correspondeu ao índice de perda óssea - IPO, expresso em mm (De LIMA, 1999). A distância da ponta da cúspide até o osso alveolar remanescente foi medida pelo programa Software Image J® Toll 1.37, fornecido pelo National Institutes of Health – NIH.

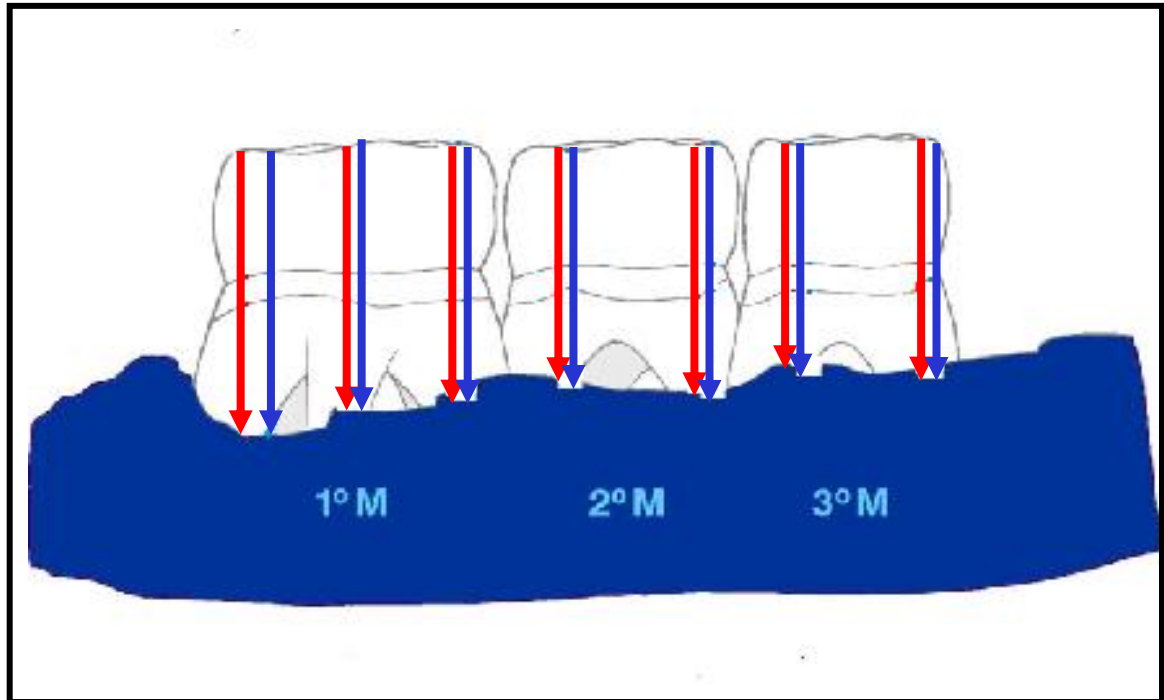


Figura 8 - Índice de Perda Óssea - IPO

Nota: Desenho esquemático das medidas da reabsorção óssea – as medidas feitas nas hemiarquias com periodontite experimental - PE (seta vermelha), foram subtraídas daquelas realizadas nas hemiarquias contra laterais (controle, seta azul). As distâncias das pontas das cúspides até o osso remanescente foram medidas pelo programa Software Image J[®] Toll 1.37

Fonte: baseado em De Lima (1999)

5.7.3 Análise histopatológica

As análises histopatológicas foram realizadas em cortes seriados da hemiarquada dos tecidos gengival e periodontal da face vestibular. No 11^o dia da indução da PE, os animais foram mortos e suas maxilas removidas e fixadas em formol (10%) durante 24 horas. Em seguida, as hemiarquadas foram imersas em solução de ácido nítrico (5%); a solução foi trocada a cada 24 horas, até que a desmineralização fosse efetivada, em torno de sete dias. A descalcificação dos tecidos mineralizados (osso e dente) foi verificada com o auxílio de uma agulha hipodérmica, a qual transfixava os tecidos.

Após a desmineralização, as maxilas, foram lavadas rapidamente em água corrente, cortadas ao meio e colocadas individualmente em cassetes identificados, para serem

imersas em uma solução de sulfato de sódio (5%) permanecendo assim, por um período de 24 horas. Após esse tempo, as maxilas foram lavadas em água corrente por 24 horas, e em seguida, imersas em solução etílica (70%). A inclusão em parafina foi realizada para efetivação dos cortes seriados das peças de 5 µm em micrótomo (OLYMPUS, CUT 4055). Cuidados foram tomados durante o processo de microtomia, de modo que os cortes seriados, ao serem visualizados ao microscópio, permitissem identificar os primeiros e segundos molares superiores, a crista óssea, a câmara pulpar coronária e a radicular. As lâminas obtidas foram coradas pelo método hematoxilina - eosina (HE). A análise microscópica da hemiarcada, da região entre os 1º e 2º molares, foi procedida de forma qualitativa, considerando os aspectos inflamatórios como presença e intensidade de infiltrado celular, além do estado de preservação do processo alveolar e cemento. Os achados foram classificados de acordo com os escores padronizados no Laboratório da Inflamação e do Câncer da Universidade Federal do Ceará - LAFICA/UFC, pela histopatologista Dra. Gerly Anne de Castro Brito, conforme descrito em Leitão *et al.* (2005), e citados no quadro 2 (atribuindo-se escores de 0-3). Fotografias foram realizadas em um microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000) com o tempo de exposição, o ganho e a saturação da cor padronizada. Foi utilizado o programa *Software* IM50. Quadro 2.

Escore 0:	Ausência ou somente discreta infiltração celular (infiltração de células inflamatórias esparsas e restrita à região da margem gengival), processo alveolar e cemento preservados.
Escore 1:	Infiltração celular moderada (infiltração celular inflamatória sobre toda a gengiva inserida). Pequena reabsorção do processo alveolar e cemento preservado.
Escore 2:	Infiltração celular acentuada (infiltração celular inflamatória na gengiva e ligamento periodontal); acentuada degradação do processo alveolar; destruição parcial do cemento.
Escore 3:	Infiltrado inflamatório acentuado. Completa reabsorção do processo alveolar; destruição severa do cemento.

Quadro 2 – Escores

Fonte: Leitão *et al.* (2005)

5.8 Ensaio de Imuno-histoquímica: TNF- α e iNOS (HSU; RAINE; FANGER, 1981)

Com a finalidade de verificar a expressão tecidual de TNF- α e iNOS, foi realizado o ensaio de imuno-histoquímica no tecido gengival e periodontal. Os cortes histológicos do tecido gengival foram diafanizados fixados em paraformaldeído a 4% e posteriormente lavados três vezes, por 5 min. Com solução tampão tris salina (TBS, pH 7.4) contendo TritonX – 100 (0,3%), sendo adicionado em seguida peróxido de hidrogênio a 3% em tampão fosfato (PBS). Depois do bloqueio das ligações inespecíficas com soro de cabra (10 %) em TBS, foi adicionado o anticorpo primário anti TNF- α (200 μ g/ml) e iNOS (1:400), *overnight*, por 16 horas em solução tampão tris 0,05M, pH 7,4, contendo 1% de BSA (soro de albumina bovina). No dia seguinte, as lâminas foram lavadas duas vezes com TBS, sendo logo em seguida adicionado o anticorpo secundário (reagente amarelo ou LINK – DAKO Cytomation) durante uma hora em câmara fria. Após esse período, as lâminas foram lavadas (duas vezes) com TBS, e adicionada estreptoavidina biotina peroxidase, um revelador (reagente vermelho – DAKO Cytomation) por 40 minutos. As lâminas foram novamente lavadas e, em seguida, foi aplicado o diaminobenzidina - DAB (cromógeno que cora as células que se ligaram aos anticorpos) preparado de acordo com o fabricante (DAKO, Cytomation) durante cinco a dez minutos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com água destilada e montadas em meio livre de xilol. Fotografias foram realizadas em um microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000) com o tempo de exposição, o ganho e a saturação da cor padronizada. Foi utilizado o programa *Software IM50*.

5.9 Avaliação do estresse oxidativo - EO

5.9.1 Determinação da peroxidação lipídica - TBARS (DRAPER; HADELY, 1990)

A atividade antioxidante foi medida pela dosagem das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). No 11º dia da indução da PE, as maxilas foram removidas e o tecido gengival da área do segundo molar esquerdo (lado teste) foi retirado, pesado e congelado. O tecido gengival foi cortado em pequenos pedaços e homogeneizado (10%) em tampão fosfato 50110 mM (pH 7,4) gelado. Duzentos e cinquenta microlitros (250 μ L do homogenato foram incubados no banho de água a temperatura de 37°C por uma hora. Após a incubação, 400 μ L de ácido perclórico (35%) foram adicionados para interromper a

peroxidação e centrifugados a 12000 rotações por minuto (rpm) 4°C por dez minutos. Em seguida, 600 µL do sobrenadante foram retirados, tendo-se adicionado mais 400 µL de ácido tiobarbitúrico a 0,6%. A mistura foi levada ao banho de água por 30 minutos a uma temperatura variável de 95 - 100°C. A solução foi então retirada e colocada para esfriar. Após isso, foi feita a leitura em 532 nm. A curva-padrão foi obtida mediante da leitura de várias concentrações de malonaldeído (MDA, µM)-padrão.

5.9.2 Dosagem da enzima superóxido dismutase - SOD (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi avaliada medindo-se sua capacidade de inibir a redução fotoquímica do azul de nitrotetrazolio (NBT). Nesse método a riboflavina reduzida fotoquimicamente gera $O_2^{\cdot-}$, o qual reduz o NBT, produzindo formazam, que absorve no comprimento de onda de 560 nm. Na presença de SOD, a redução do NBT é inibida. Os resultados foram expressos em unidades da enzima, que é a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50%. O homogenato (10% em tampão fosfato) foi centrifugado (dez minutos 3600 rotações por minuto-rpm a 4°C). O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente (20 min 12000 rpm 4°C). Para o ensaio, foi utilizado o sobrenadante. Numa câmara escura, foram misturados 1 mL do meio de reação (tampão fosfato 50 mM, EDTA 100 nM e L-metionina 13 mM pH 7,8), 150 µL do NBT 75 µM, 300 µL riboflavina 2 µM e 20 µL da amostra ou do tampão utilizado para o preparo dos homogenatos. Os tubos contendo a solução obtida foram expostos a lâmpadas fluorescentes (15W) por 15 minutos. Ao término do tempo o material foi lido em espectrofotômetro 560 nm

5.10 Análise da variação da massa corpórea

Os animais foram pesados antes e da indução da PE e, após essa, a cada três dias durante o experimento (1° - 11°) em uma balança para pesagem de animais, modelo IDE - 1500 (Filizola) para que as condições de saúde geral e o controle das suas massas corpóreas fossem avaliados. Os valores encontrados foram expressos como a variação de massa corpórea (em gramas) em relação à massa inicial (primeiro e último dia).

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm EPM. Para comparação entre os grupos, foram utilizados: Análise de Variância (ANOVA), Testes de Tukey e t de Student. Nas análises histopatológicas, os dados obtidos foram expressos em escores e foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e de Dunn. As análises estatísticas foram feitas utilizando o *Software Prism GraphPad 3.0.*[®] Em todas as situações, foi adotado o nível de significância p menor do que 0,05.

7 RESULTADOS

7.1 Avaliação comportamental

7.1.1 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado de ansiedade na PE

O teste do labirinto em cruz elevado foi realizado no 10º dia após a indução da PE (conforme descrito em Materiais e Métodos). Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços fechados revelou um efeito ansiogênico dos animais. Apenas os animais tratados com venlafaxina (50 mg/kg) apresentaram comportamento ansiogênico quando comparados aos animais do grupo FO. Tabela 1.

Tabela 1 - Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado de ansiedade na PE

GRUPOS	NEBA	NEBF	TPBA (s)	TPBF (s)
FO	2,86 ± 0,38 (25,10)	8,54 ± 0,64 (74,90)	40,45 ± 7,13 (15,83)	215,1 ± 8,95 (84,17)
PE	2,48 ± 0,51 (27,66)	6,48 ± 0,69 (72,34)	36,19 ± 6,95 (13,46)	232,7 ± 11,79 (86,54)
FO + Venla 10	1,53 ± 0,41 (19,99)	6,12 ± 0,78 (80,01)	28,82 ± 10,17 (10,75)	239,3 ± 14,70 (89,25)
PE + Venla 10	3,00 ± 0,58 (33,10)	6,03 ± 0,66 (66,90)	36,19 ± 8,46 (14,74)	209,3 ± 12,39 (85,26)
FO + Venla 50	1,33 ± 0,29 (20,69)	5,11 ± 0,79 (79,31)	19,22 ± 5,02 (7,09)	251,9 ± 7,75 (92,91)
PE + Venla 50	0,17 ± 0,17 * (4,55)	3,50 ± 0,67 * (95,45)	2,17 ± 2,18 * (0,80)	269,7 ± 9,24 * (99,20)

Nota: NEBA – número de entradas no braço aberto; NEBF – número de entradas no braço fechado; TPBA - tempo de permanência no braço aberto; TPBF – tempo de permanência no braço fechado. Os animais foram tratados com venlafaxina (10 e 50 mg/kg, v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. Os valores representaram médias ± EPM. Entre parênteses foram indicadas a porcentagem do tempo de permanência e o número de entradas em cada braço.

Fonte: dados da pesquisa

7.1.2 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado depressivo na PE

O teste do nado forçado foi realizado no 10º dia da indução da PE. Foram observadas as seguintes médias \pm EPM do tempo de imobilização (s) entre os grupos: (FO = $115 \pm 16,36$; PE = $132 \pm 15,55$; FO + venlafaxina 10 mg/kg = $95,1 \pm 22,50$; PE + venlafaxina 10 mg/kg = $120 \pm 19,50$; FO + venlafaxina 50 mg/kg = $204,6 \pm 18,52$; PE + venlafaxina 50 mg/kg = $102,7 \pm 48,37$). Não houve diferença significativa entre os grupos, demonstrando que a PE não induziu a um estado de depressão ($p > 0,05$). Gráfico 1.

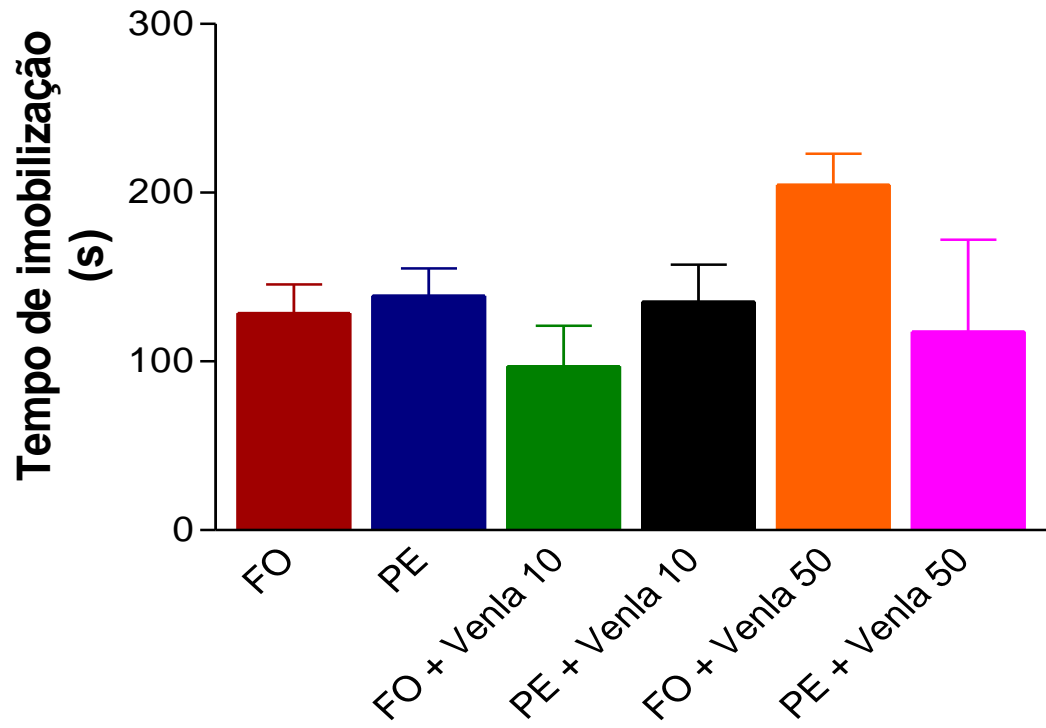


Grafico 1 - Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estado depressivo na PE. Os animais foram tratados com venlafaxina (10 e 50 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. Os grupos controles FO e PE foram tratados com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM ($p > 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa, com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0.

7.2 Aspecto macroscópico do tecido ósseo alveolar de ratos submetidos à PE e tratados com venlafaxina

O modelo de PE utilizado mostrou que a permanência do fio de náilon foi capaz de induzir periodontite, de maneira a reproduzir os principais sinais clínicos da doença periodontal em humanos, caracterizados por perda óssea alveolar, exposição de raíz, o que pode ser observado no 11º dia da indução da PE. Os grupos-controles (FO) e submetidos à PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da PE. Os animais submetidos à PE (B) exibiram uma perda óssea significativa ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo falso-operados (FO, A). Observou-se nos animais tratados com venlafaxina (10 mg/kg) uma tendência à inibição da perda óssea alveolar, mas não significativa. A dose (50 mg/kg) aumentou a POA. A venlafaxina foi administrada (v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da PE. Aumento de 1,5x. Figura 9.

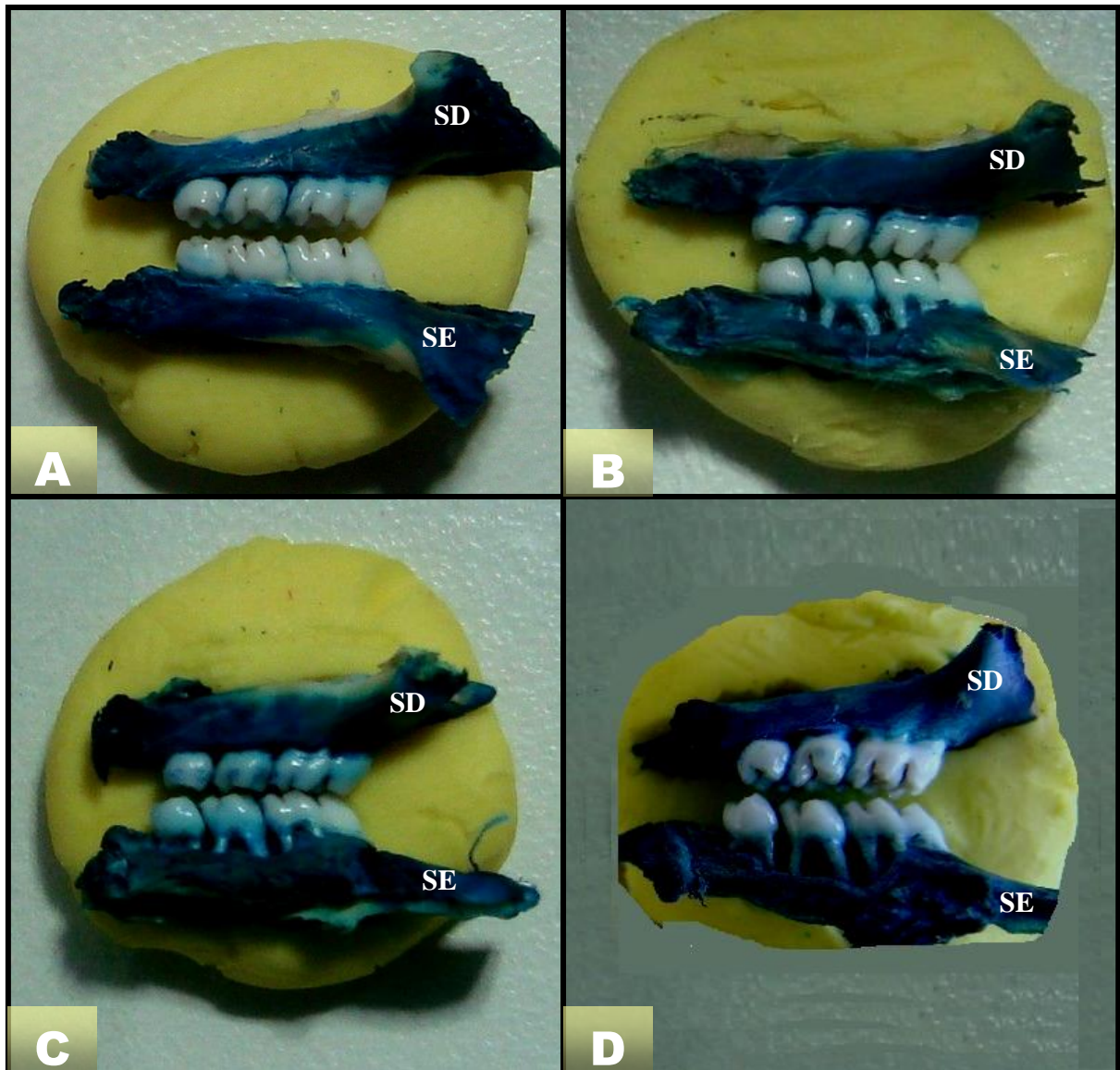


Figura 9 – Aspecto macroscópico de maxilas de ratos submetidos à PE e tratados com venlafaxina. (A) FO; (B) PE; (C) PE + venlafaxina 10 mg/kg; (D) PE + venlafaxina 50 mg/kg. A venlafaxina foi administrada (v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e, após essa, diariamente durante nove dias. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). SD (superior direita); SE (superior esquerda).

Fonte: dados da pesquisa com utilização de câmera digital Sony-DSC, H5.

7.3 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o índice de perda óssea alveolar na PE

O gráfico 2 mostra o efeito do tratamento com venlafaxina (10 mg/kg e 50 mg/kg, v.o, gavagem) administrada uma hora antes da indução da PE e, após essa, diariamente, durante nove dias. Os grupos-controles FO e PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Observaram-se as seguintes médias (mm) \pm EPM entre os grupos: (FO = $1,48 \pm 0,29$; PE + água = $4,47 \pm 0,41$; FO + venlafaxina (10 mg/kg) = $0,70 \pm 0,14$; PE + venlafaxina (10 mg/kg) = $3,25 \pm 0,31$) e nos grupos tratados com venlafaxina (50 mg/kg) (FO = $1,45 \pm 0,24$; PE + venlafaxina = $6,27 \pm 0,82$).

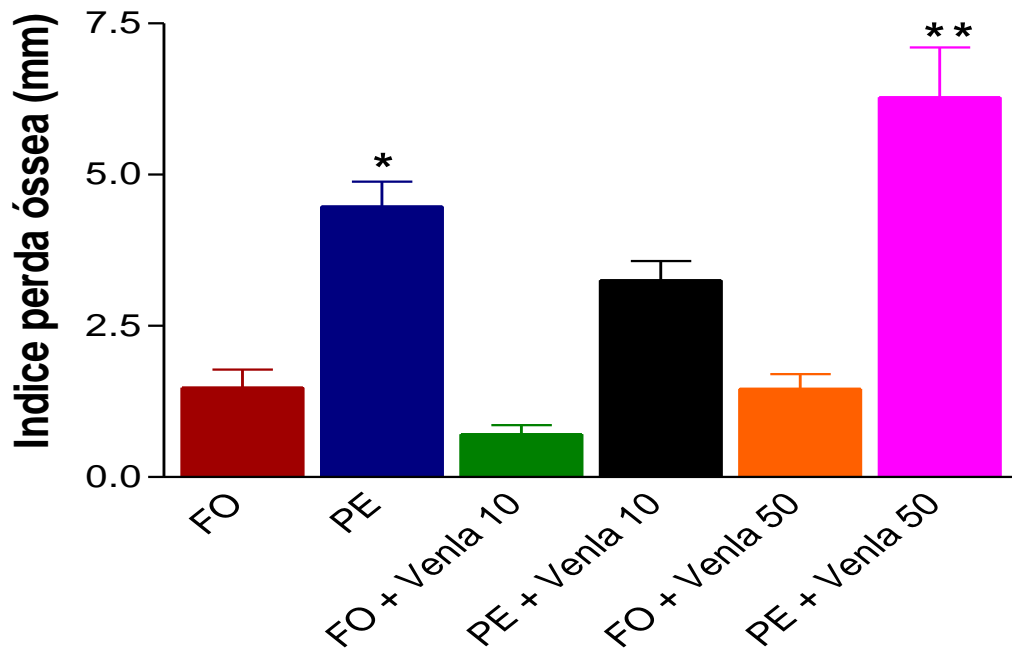


Grafico 2 - Efeito do tratamento com venlafaxina (venla) sobre o IPO. Os animais foram tratados com venlafaxina (venla 10 mg/kg e 50 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes e durante nove dias, consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM * vs FO ($p < 0,001$, ANOVA, Teste de Tukey), ** vs PE (teste t de Student).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0.

7.4 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre as alterações histopatológicas na PE

A figura 10 mostra o aspecto histopatológico do periodonto de ratos submetidos à PE e tratados com venlafaxina (10 mg/kg), podendo-se observar no grupo falso-operado (FO) e tratado apenas com água (v.o, gavagem) infiltrado celular inflamatório discreto, com preservação do processo alveolar e cemento (A). Esse grupo de animais recebeu escore 0 (0-0). No grupo submetido à PE e tratado com água (v.o, gavagem), observou-se infiltrado mononuclear acentuado (linfócito e macrófagos) visto como pontilhado corado pelo método HE, destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo (B, seta), escore 2 (2-3). No grupo de animais submetido à PE e tratado com venlafaxina (10 mg/kg), diariamente (v.o, gavagem) durante nove dias, observou-se destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo (C, seta), escore 2 (1-3). Tabela 2.

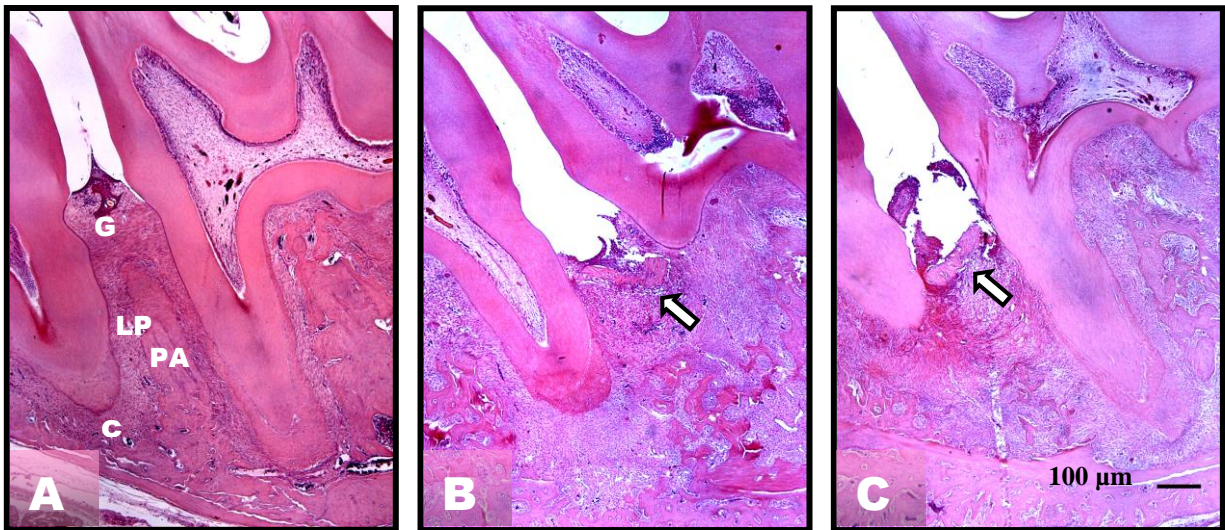


Figura 10 - Fotomicrografias do periodonto de ratos. Região entre o primeiro e segundo molares, 11^o dias da indução da PE (n= 5-6). **(A)** FO: infiltrado celular inflamatório discreto, processo alveolar e cimento preservados, mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP), processo alveolar (PA), cimento (C); **(B)** mostrando infiltração celular monolinfocitária acentuada, destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo (seta); PE + venlafaxina (10 mg/kg) observando infiltração celular acentuada, destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo **(C)**, seta). Aumento de 40x. Barra escala 100µm.

Fonte: dados da pesquisa com utilização de microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000)

Tabela 2 – Alterações histopatológicas da PE tratada com venlafaxina

GRUPOS	ESCORES
FO	0 (0-0)
PE	2 (2-3) *
PE + venlafaxina (10 mg/kg)	2 (1-3) *

Nota: Os dados entre parênteses representam a variação dos escores onde as regiões entre os 1^o e 2^o molares foram consideradas para análise da presença da infiltração celular, preservação do osso alveolar e do cimento nos animais (n= 5-6) *vs FO p < 0,004 (Kruskal-Wallis, Teste de Dunn).

Fonte: dados da pesquisa

7.5 Efeito do tratamento com venlafaxina na imunomarcção para TNF- α e iNOS nos tecidos gengival e periodontal de ratos submetidos à PE

7.5.1 Ensaio da imuno-histoquímica para TNF- α

O ensaio da imuno-histoquímica para TNF- α demonstrou aumento da marcação nos animais submetidos à PE que pode ser visualizado nas fotomicrografias na figura 11. O tratamento com a venlafaxina (10 mg/kg, v.o, gavagem) não alterou esse resultado.

7.5.2 Ensaio da imuno-histoquímica para iNOS

O ensaio da imuno-histoquímica para iNOS demonstrou que os animais submetidos à PE apresentaram aumento na marcação dessa enzima, comparados ao grupo FO. O tratamento com a venlafaxina não inibiu esse resultado (figura 11).

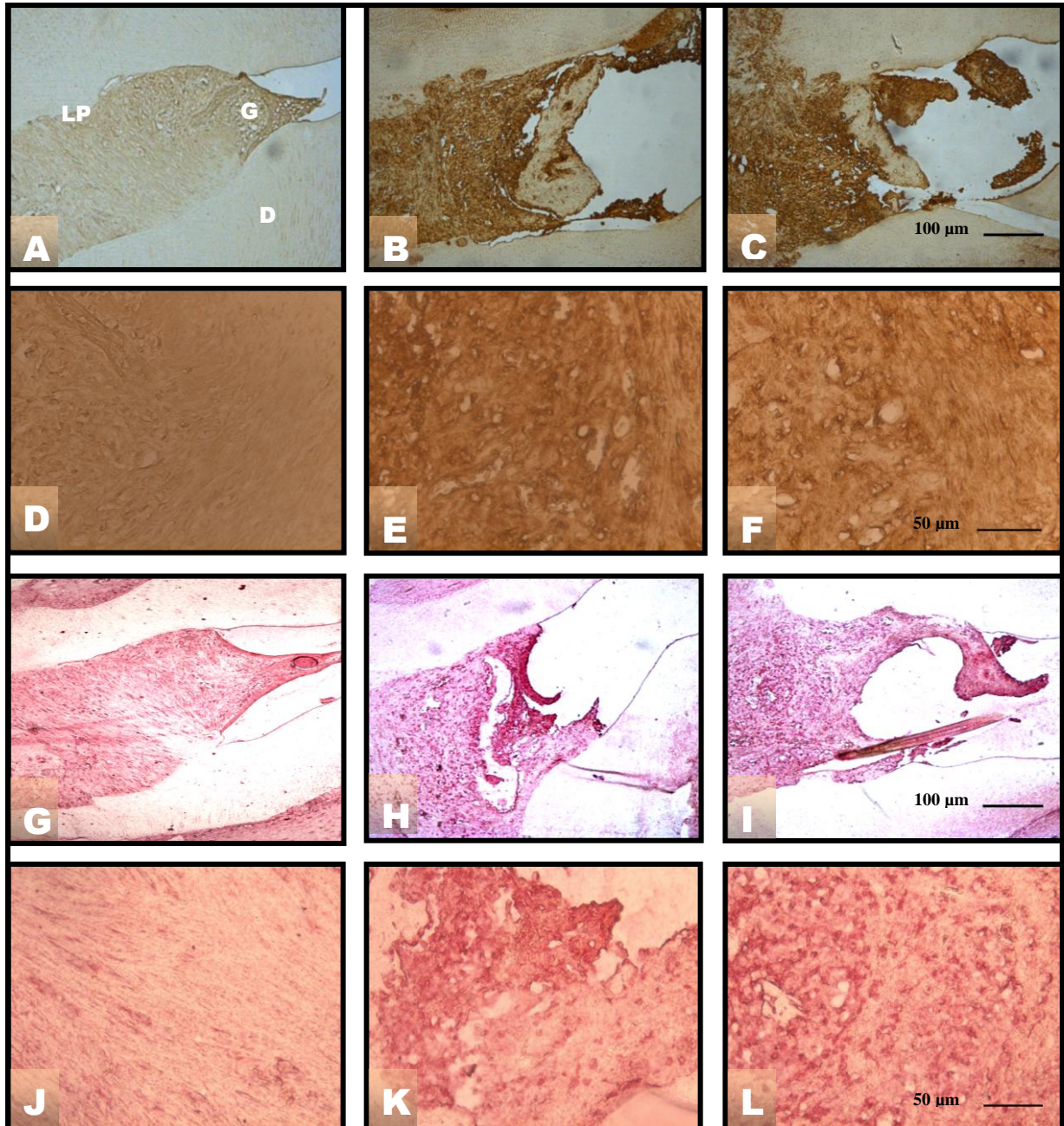


Figura 11 – Imunomarcção para TNF- α (A – F) e iNOS (G – L) nos tecidos gengival e periodontal de ratos, entre a região do primeiro e segundo molares superiores (n= 3-4). Os animais foram tratados com venlafaxina (10 mg/kg, v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. (A) Maxila normal mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP) e dentina (D) FO + venlafaxina 10 (A, D, G e J); PE (B, E, H e K); PE + venlafaxina 10 (C, F, I e L). Aumento: 100x (A, B, C, G, H, I); 400x (D, E, F, G, J, K, L).

Fonte: dados da pesquisa com utilização de microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000)

7.6 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estresse oxidativo na PE

O gráfico 3 mostra a concentração de malonaldeído da peroxidação lipídica (TBARS) em tecido gengival de ratos submetidos à PE. Foram verificadas as seguintes médias MDA (μM) \pm EPM entre os grupos (FO = $0,28 \pm 0,09$; PE = $2,61 \pm 0,46$; FO \pm venlafaxina = $0,77 \pm 0,51$; PE + venlafaxina = $0,61 \pm 0,15$). Nos animais submetidos à PE, verificou-se aumento da peroxidação lipídica, quando comparados aos animais do grupo FO. A venlafaxina (10 mg/kg) inibiu significativamente esse aumento.

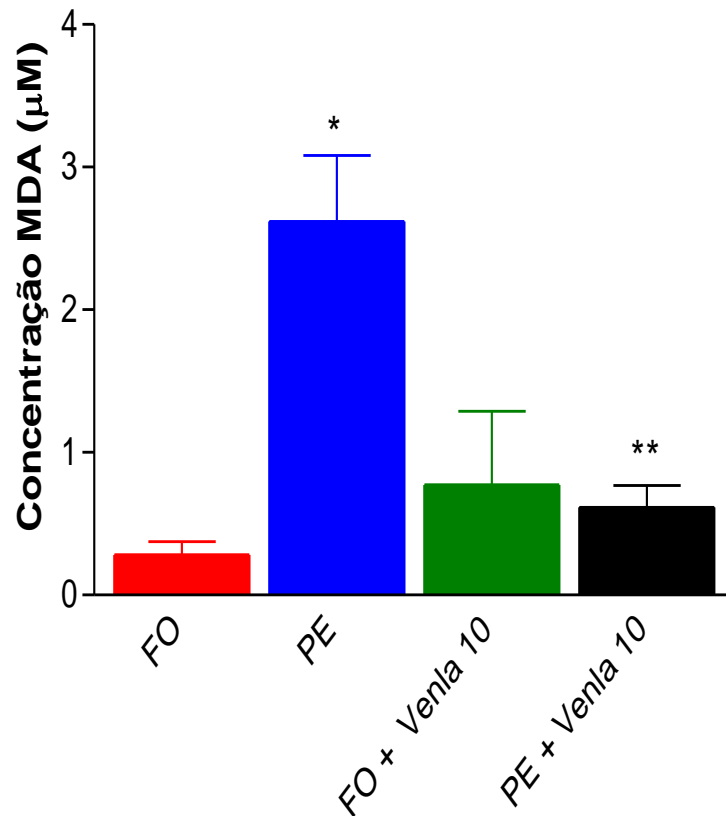


Grafico 3 - Efeito do tratamento com venlafaxina sobre o estresse oxidativo na PE. Os animais foram tratados com venlafaxina (venla 10 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes e durante nove dias, consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM da concentração de malonaldeído (MDA, μ M) do tecido gengival * vs FO ** vs PE ($p < 0,05$ ANOVA, Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0.

7.7 Efeito do tratamento com venlafaxina sobre a variação da massa corpórea na PE

Os animais tiveram suas massas corpóreas avaliadas antes da indução da PE e, após essa, a cada três dias (0-11^o). Foram registradas as seguinte médias (g) \pm EPM entre os grupos: (FO = $35,05 \pm 1,67$; PE = $23,24 \pm 4,53$; FO + venlafaxina (10 mg/kg) = $24,71 \pm 3,24$; PE + venlafaxina (10 mg/kg) = $24,96 \pm 3,57$; FO + venlafaxina (50 mg/kg) = $21,56 \pm 5,2$; PE + venlafaxina (50 mg/kg) = $22,71 \pm 4,92$. Verificou-se diferença significativa entre os grupos FO e submetidos à PE ($p < 0,05$). Gráfico 4.

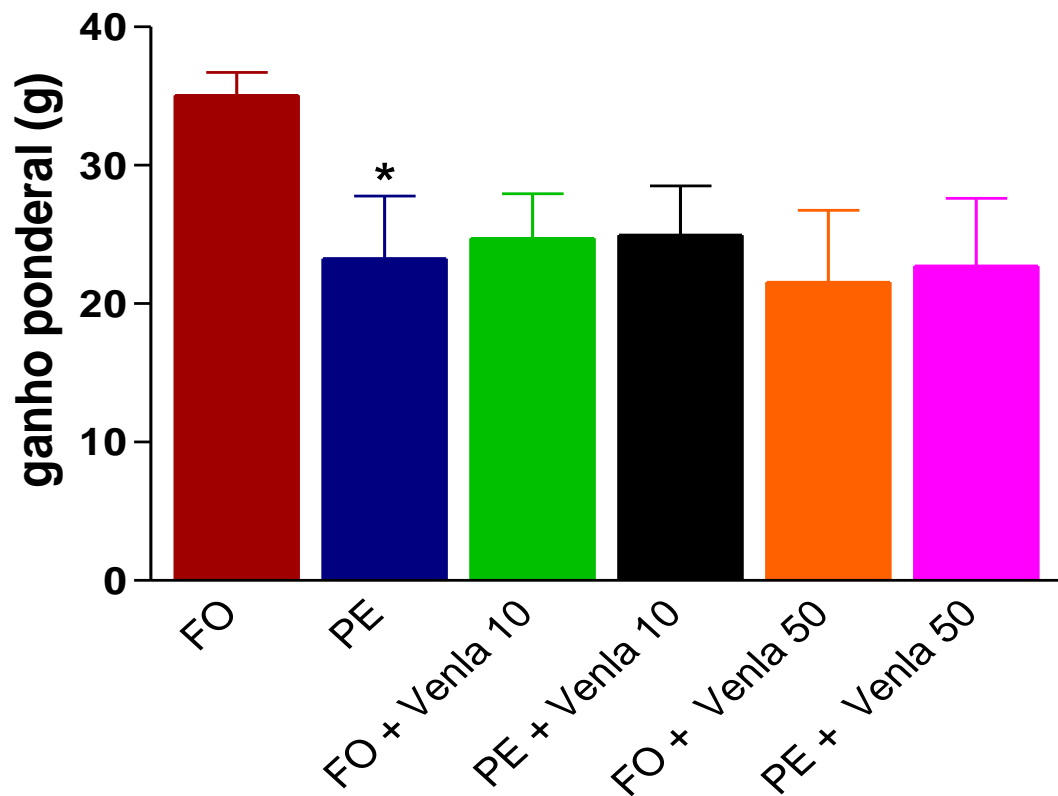


Gráfico 4 - Efeito da venlafaxina sobre a variação da massa corpórea de ratos submetidos à PE. Os animais foram tratados com venlafaxina (venla 10 mg/kg e 50 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes e durante nove dias, consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados apenas com água (v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM da massa corpórea dos animais em * vs FO ($p < 0,05$, ANOVA, Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad® 3.0.

7.8 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado de ansiedade na PE

O teste de labirinto em cruz elevado foi realizado no 10º dia da indução da PE (conforme descrito em Materiais e Métodos) [(Tabela 3)].

Tabela 3 - Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado de ansiedade na PE

GRUPOS	NEBA	NEBF	TPBA (s)	TPBF (s)
FO	4,67 ± 0,50 (35,00)	8,67 ± 0,47 (65,00)	64,00 ± 9,29 (25,93)	182,8 ± 4,81 (74,07)
PE	3,22 ± 0,70 (32,95)	6,56 ± 0,94 (67,05)	37,00 ± 7,70 (15,41)	203,1 ± 12,06 (84,59)
FO + Vit E	2,57 ± 0,72 (21,68)	9,29 ± 1,06 (78,32)	29,86 ± 8,41 * (11,36)	232,9 ± 13,38* (88,64)
PE + Vit E	2,50 ± 0,53 (26,32)	7,00 ± 1,28 (73,68)	21,38 ± 4,80 * (7,80)	252,6 ± 8,27* (92,20)

Nota: NEBA – número de entradas no braço aberto; NEBF – número de entradas no braço fechado; TPBA – tempo de permanência no braço aberto; TPBF – tempo de permanência no braço fechado. A vitamina E foi administrada na dose de 500 mg/kg. (v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e diariamente durante nove dias. Os valores representam média ± EPM. Entre parênteses foram indicadas a porcentagem do tempo de permanência e o número de entradas em cada braço *vs FO (ANOVA e Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa.

7.9 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado depressivo na PE

O teste do nado forçado foi realizado no 10º dia da indução da PE (conforme Materiais e Métodos). Foram registradas as seguintes médias (s) \pm EPM do tempo de imobilização em segundos (s): (FO = 35,50 \pm 15,00; PE = 17,38 \pm 9,45; FO + vitamina E = 11,10 \pm 6,30; PE + vitamina E = 19,70 \pm 6,52. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$). Gráfico 5.

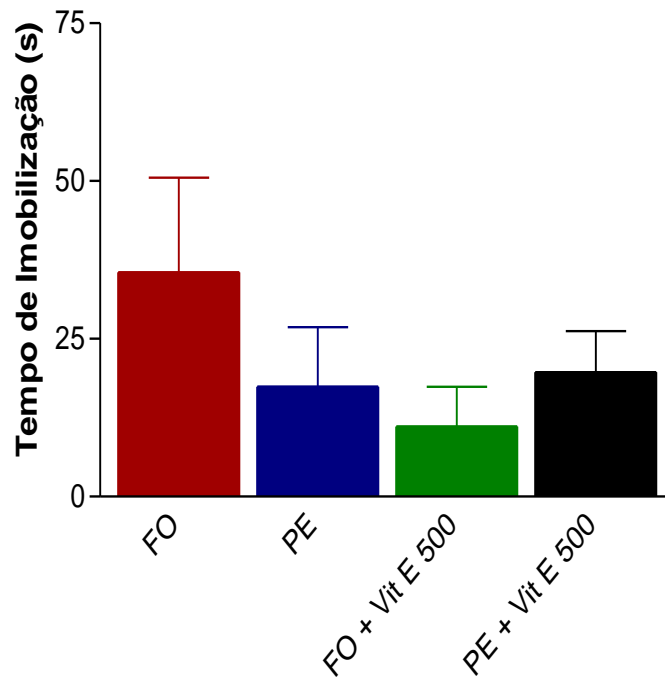


Gráfico 5 - Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estado depressivo na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (Vit E, 500 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e diariamente, durante nove dias. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados com óleo (veículo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM (ANOVA, Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0.

7.10 Aspecto macroscópico do tecido ósseo alveolar de ratos submetidos à PE e tratados com vitamina E

A figura 12 mostra o efeito do tratamento da vitamina E (500 mg/kg) administrada por via oral (v.o, gavagem), uma hora antes da indução da PE e, após essa, diariamente, durante nove dias. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados com óleo (veículo). Observou-se no grupo submetido à PE e tratado com óleo (B) exposição das raízes, perda óssea alveolar, quando comparados ao grupo FO (A). O uso de vitamina E (500 mg/kg) não protegeu a perda óssea alveolar decorrente da indução da PE. Aumento 1,5.

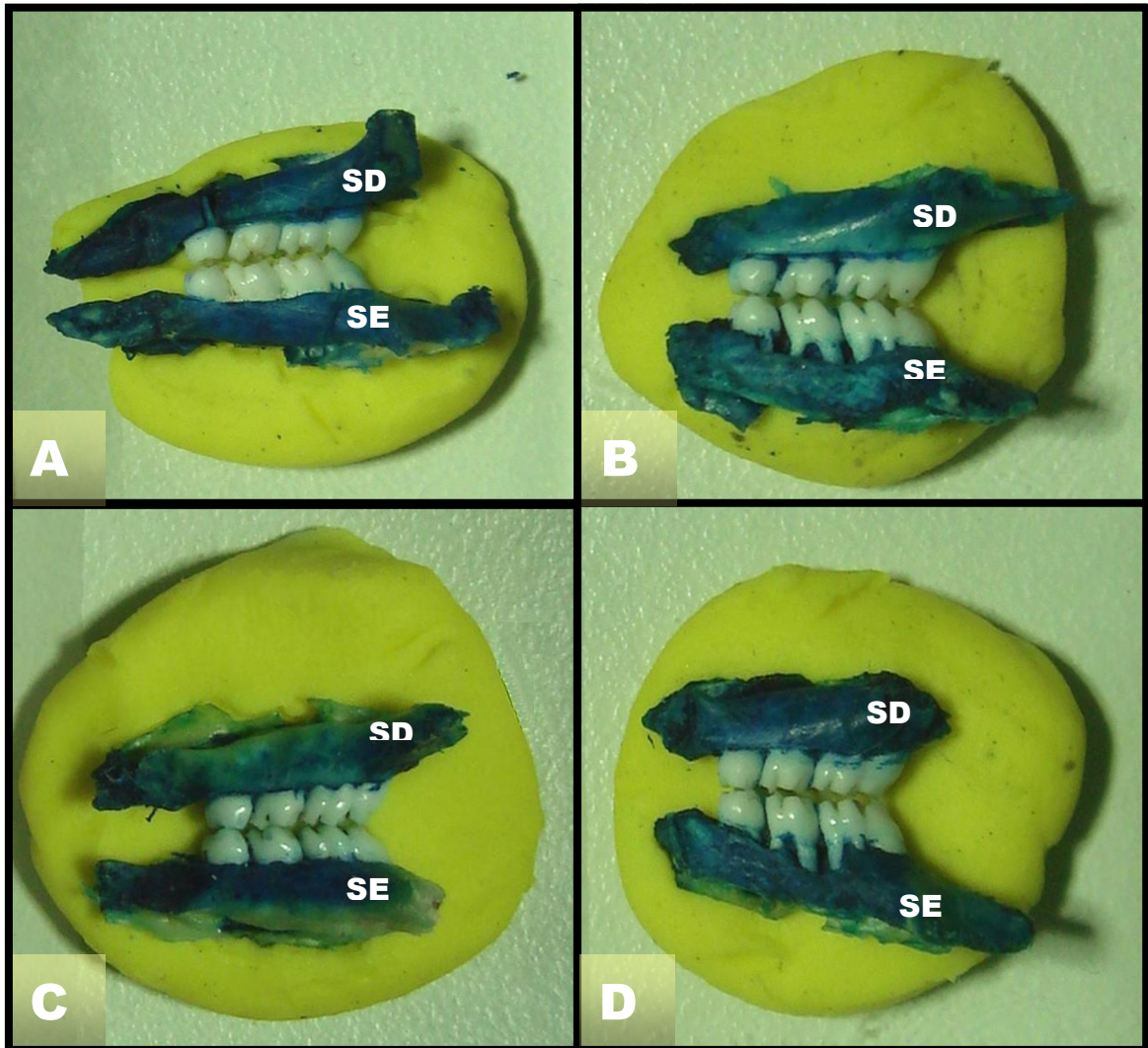


Figura 12 - Aspecto macroscópico de maxilas de ratos submetidos à PE e tratados com vitamina E: (A) FO + óleo; (B) PE + óleo; (C) FO + vitamina E; (D) PE + vitamina E. A vitamina E (500 mg/kg, v.o, gavagem) foi administrada uma hora antes da indução da PE e, após essa, diariamente durante nove dias. SD (superior direita); SE (superior esquerda).

Fonte: dados da pesquisa com utilização de câmera digital Sony-DSC, H5.

7.11 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o índice da perda óssea alveolar na PE

O gráfico 6 mostra o índice da perda óssea alveolar no periodonto de ratos submetidos à PE e tratados com vitamina E (500 mg/kg, v.o). Foram registradas as seguintes médias (mm) \pm EPM entre os grupos (FO = $1,41 \pm 0,30$; PE + óleo = $7,42 \pm 1,37$; FO + vitamina E = $1,78 \pm 0,26$; PE + vitamina E = $7,20 \pm 0,80$). Os animais submetidos à PE apresentaram perda óssea alveolar significativa ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo FO.

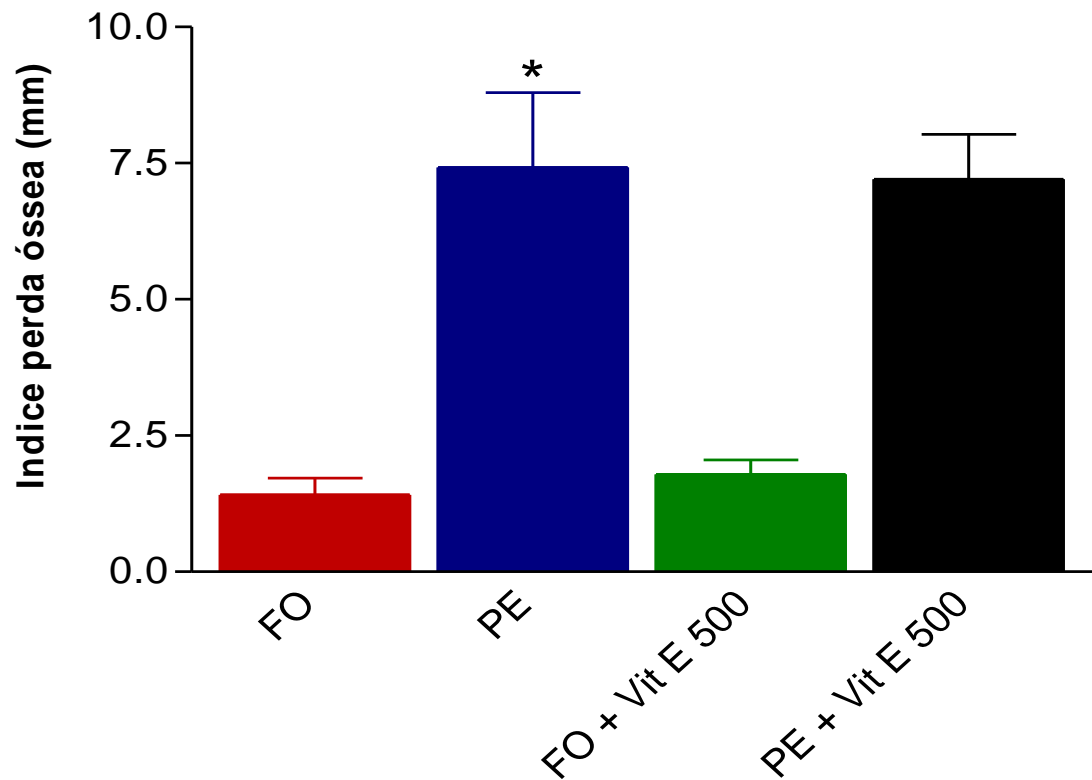


Gráfico 6 – Efeito do tratamento com vitamina E sobre o IPO na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (vit E, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM ($p < 0,001$, ANOVA, Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0

7.12 Efeito do tratamento com vitamina E sobre as alterações histopatológicas na PE

A figura 13 mostra o aspecto histopatológico do periodonto de ratos submetidos à PE e tratados com vitamina E (500 mg/kg, v.o, gavagem), podendo-se observar, no grupo falso-operado (FO) tratado com o veículo (óleo, v.o), infiltrado celular inflamatório discreto, com preservação do processo alveolar e cimento, escore 0 (0-0). No grupo submetido à PE tratado com veículo (óleo), observou-se infiltrado mononuclear acentuado (linfócito e monócito) visto como pontilhado corado pelo método HE, destruição do processo alveolar, restando apenas fragmento ósseo, destruição severa do cimento (B, seta), escore 3 (2-3). O grupo submetido à PE e tratado com vitamina E, mostrou infiltrado mononuclear acentuado (linfócito e macrófagos) visto como pontilhado corado pelo método HE, destruição do processo alveolar, destruição parcial do cimento (C, seta), escore 2 (0-3). Tabela 4.

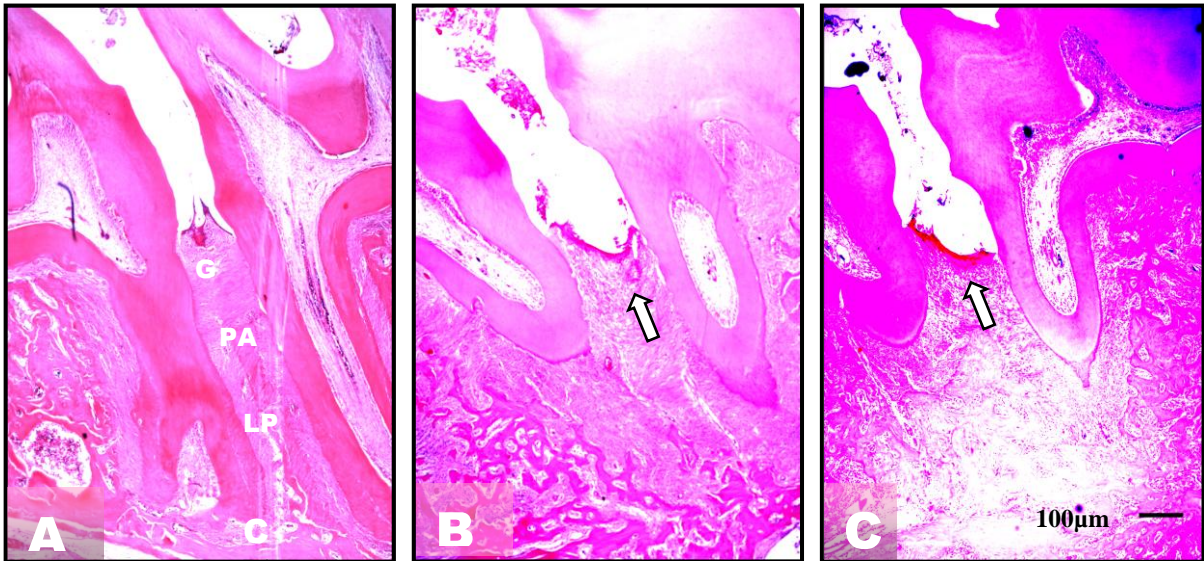


Figura 13 - Fotomicrografias do periodonto de ratos. Região entre o primeiro e segundo molares. FO (A): infiltração celular discreta, processo alveolar e cemento preservados; mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP), processo alveolar (PA), cemento (C); PE (B): infiltração celular monolinfocitária acentuada, destruição do processo alveolar; PE + vitamina E; (C) infiltração celular moderada, reabsorção do processo alveolar. Aumento 40x. Barra escala 100µm.

Fonte: dados da pesquisa com utilização de microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000).

Tabela 4 – Alterações histopatológicas da PE tratada com vitamina E

GRUPOS	ESCORES
FO	0 (0-0)
PE	3 (2-3) *
PE + Vitamina E (500 mg/kg)	2 (0-3) *

Nota: Os dados entre parênteses representaram a variação dos escores, onde as regiões entre os 1° e 2° molares foram consideradas para análise da presença de infiltrado celular, preservação do osso alveolar e do cemento nos animais (n = 5-6) * vs FO (Kruskal-Wallis, Teste de Dunn).

Fonte: dados da pesquisa

7.13 Efeito do tratamento com vitamina E na imunomarcção para TNF- α e iNOS nos tecidos gengival e periodontal de ratos submetidos à PE

7.13.1 Ensaio da imuno-histoquímica para TNF- α

O ensaio de imuno-histoquímica demonstrou aumento da marcação tecidual nos animais submetidos à PE, comparado ao grupo FO, o que pode ser visualizado nas fotomicrografias na figura 14. O tratamento com vitamina E (500 mg/kg) não inibiu esse resultado.

7.13.2 Ensaio da imuno-histoquímica para iNOS

O ensaio de imuno-histoquímica para iNOS demonstrou que a PE aumentou a marcação tecidual dessa enzima, quando comparado ao grupo FO, o que pode ser visualizado nas fotomicrografias na figura 14. O tratamento com a vitamina E (500 mg/kg) reduziu esse efeito.

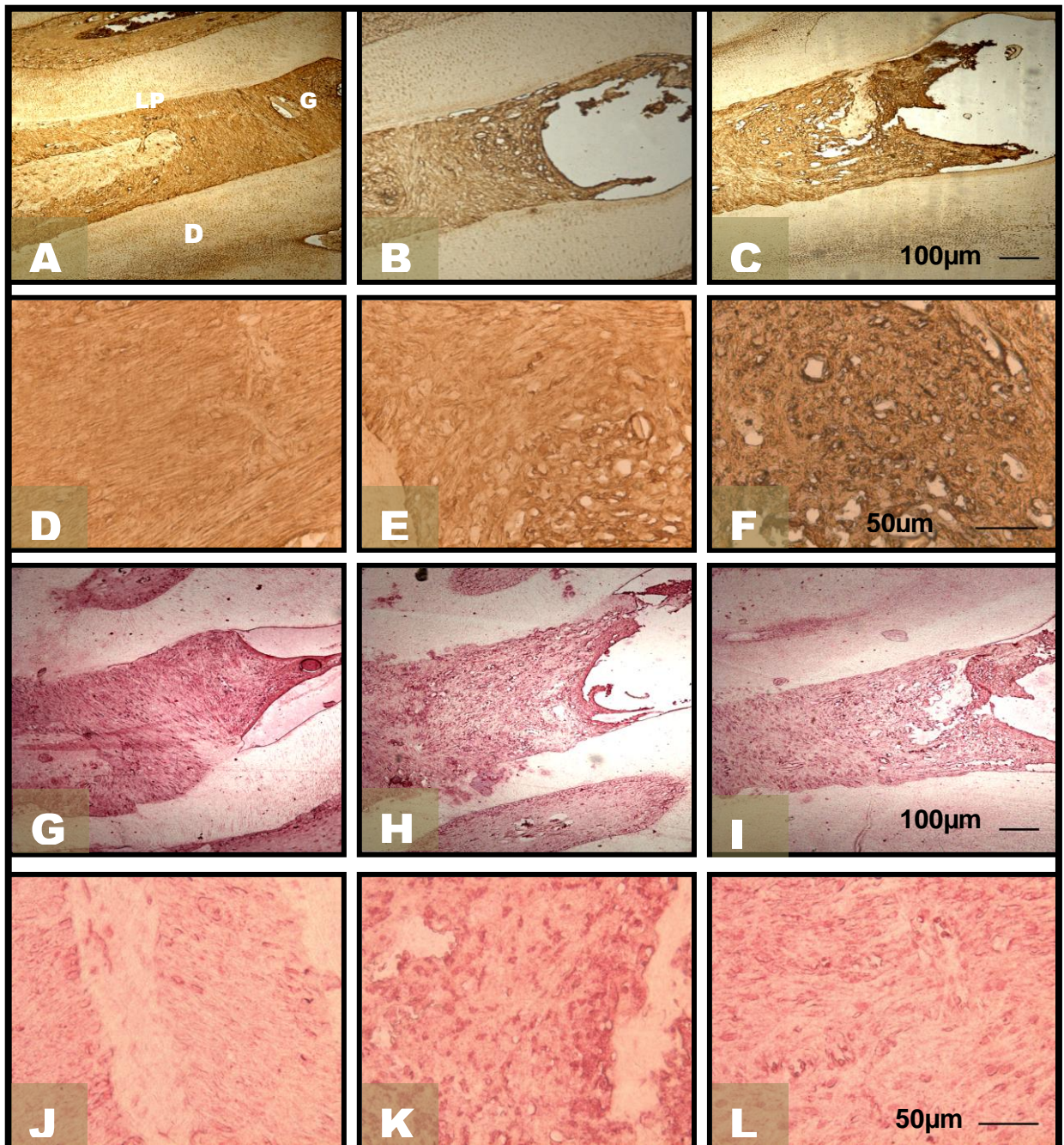


Figura 14 - Imunomarcção para TNF- α (A – F) e iNOS (G – L) nos tecidos gengival e periodontal de ratos submetidos à PE, entre a região do primeiro e segundo molares superiores (n= 3-4). Os animais foram tratados com vitamina E (500 mg/kg, v.o, gavagem), 1 hora antes da indução da PE e diariamente, durante 9 dias. Maxila normal mostrando gengiva (G), ligamento periodontal (LP) e dentina (D) (A). FO (A, D, G e J); PE (B, E, H e K); PE + Vitamina E (C, F, I e L). Aumento: 100x (A, B, C, G, H, I); 400x (D, E, F, J, K, L).

Fonte: dados da pesquisa com utilização de microscópio com câmera acoplada (LEICA, DFC, 320, DM 1000)

7.14 Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estresse oxidativo na PE

7.14.1 Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS)

O gráfico 7 mostra a avaliação da peroxidação lipídica (TBARS). Foram verificados os seguintes valores de concentração MDA (μM) nos diferentes grupos (FO= $1,97 \pm 0,11$; PE= $3,13 \pm 0,41$; FO + vitamina E= $1,82 \pm 0,06$; PE + vitamina E= $1,89 \pm 0,35$). Os animais submetidos à PE apresentaram aumento significativo na concentração de MDA (μM) [($p < 0,01$)] comparados ao grupo FO. O tratamento com vitamina E (500 mg/kg) inibiu esse efeito ($p < 0,05$).

7.14.2 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

O gráfico 8 demonstra o efeito da vitamina E na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em homogenato de tecido gengival de ratos submetidos à PE. Foram vistos os seguintes valores (U/mg de tecido gengival) entre os grupos (FO= $348,3 \pm 55,29$; PE= $315,9 \pm 60,3$; FO + vitamina E= $388,1 \pm 37,30$; PE + vitamina E= $37,30 \pm 84,41$). Não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey).

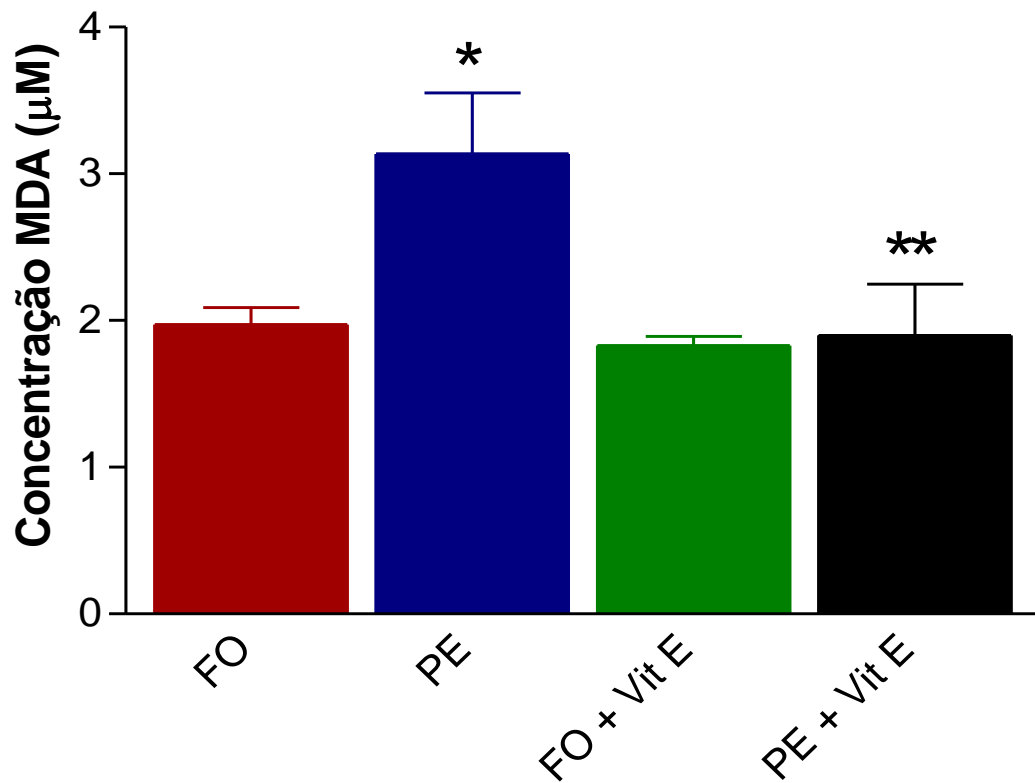


Gráfico 7 – Efeito do tratamento com vitamina E sobre o estresse oxidativo (TBARS) na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (vit E) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo). Os resultados foram expressos em média \pm EPM * vs FO ($p < 0,01$) ** vs PE ($p < 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad® 3.0.

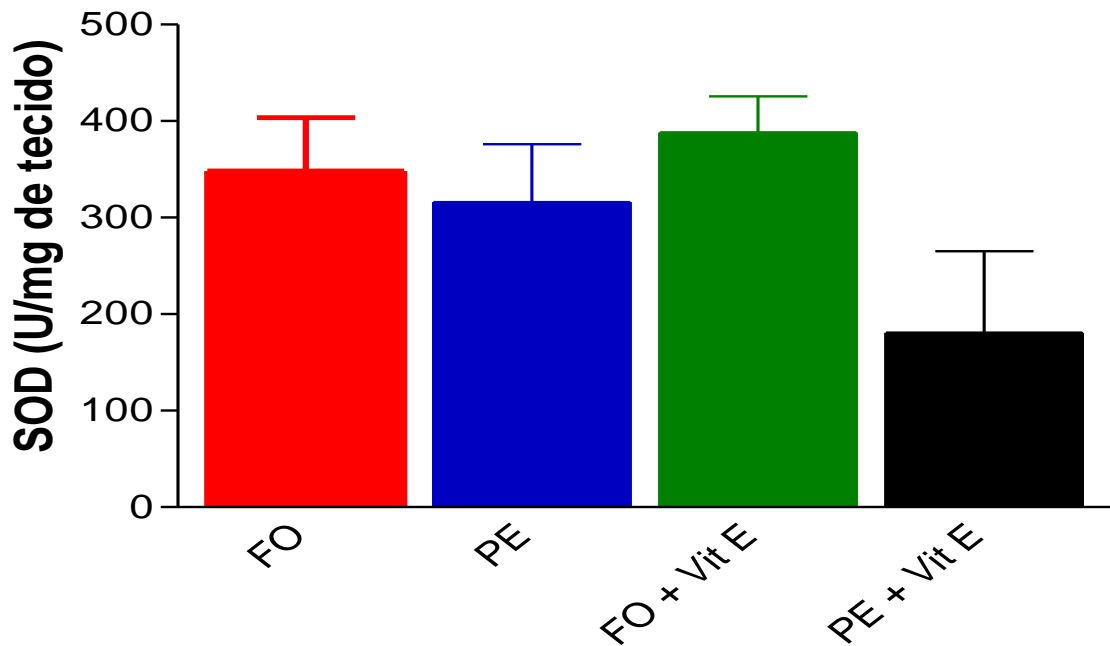


Grafico 8 – Efeito do tratamento com vitamina E na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em homogenato de tecido gengival de ratos submetidos à PE (unidades por mg de tecido). Os animais foram tratados com vitamina E (vit E, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da doença experimental. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM, ($p > 0,05$, ANOVA e Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0.

7.15 Efeito do tratamento com vitamina E sobre a variação de massa corpórea na PE

O gráfico 9 demonstra a variação da massa corpórea dos animais na PE. Os animais foram tratados com vitamina E (500 mg/kg, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da doença experimental. Os grupos-controles FO e com PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os animais tiveram suas massas corpóreas avaliadas antes da indução da PE e, após essa, a cada três dias. Observaram-se as seguintes médias (g) \pm EPM entre os grupos (FO = 40,31 \pm 2,84; PE = 30,33 \pm 2,39; FO + vitamina E = 33,31 \pm 2,81; PE + vitamina E = 24,31 \pm 3,90). Os animais submetidos à PE ganharam menos massa corpórea nos primeiros dias da indução da doença experimental.

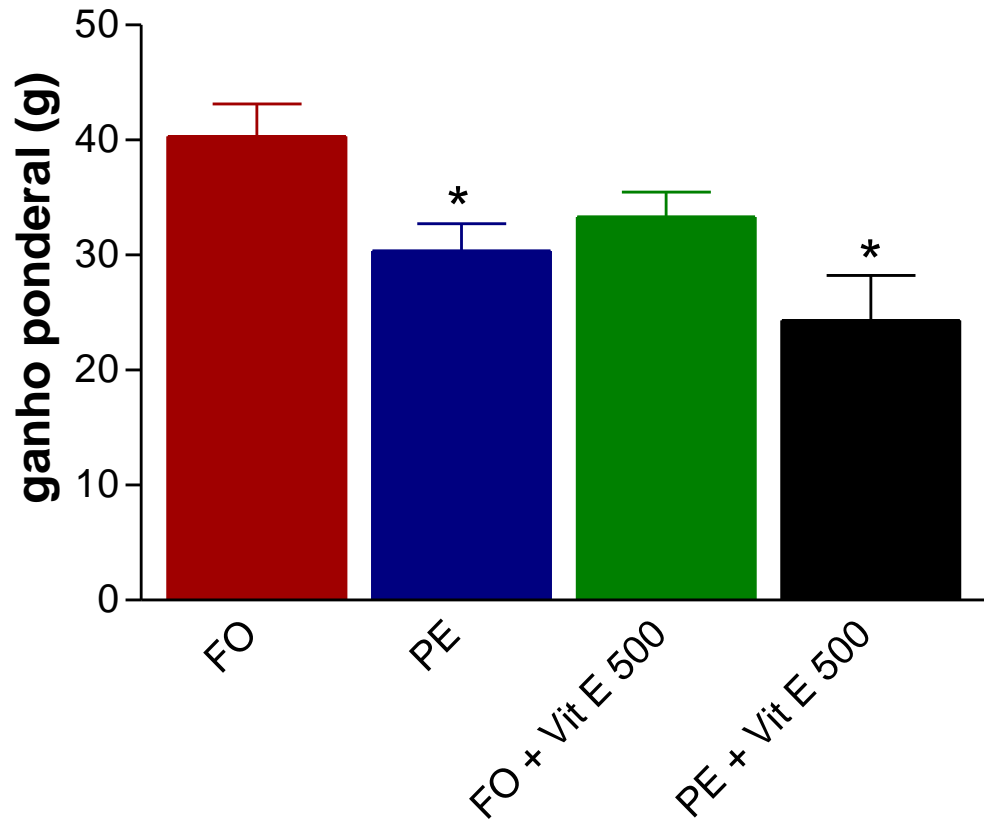


Grafico 9 – Efeito do tratamento com vitamina E sobre a variação da massa corpórea de ratos submetidos à PE. Os animais tiveram suas massas corpóreas avaliadas antes da indução da PE e, após essa, a cada três dias (1^o-11^o). Os animais foram tratados com vitamina E (vit E, v.o, gavagem) uma hora antes da indução da PE e durante nove dias consecutivos à indução da PE. Os grupos-controles FO e PE foram tratados com o veículo da vitamina E (óleo, v.o, gavagem). Os resultados foram expressos em média \pm EPM *vs FO ($p < 0,05$, ANOVA, Teste de Tukey).

Fonte: dados da pesquisa com utilização do programa Prism GraphPad[®] 3.0.

8 DISCUSSÃO

A DP é considerada enfermidade inflamatório-imunológica de natureza multifatorial, em que danos teciduais resultam de uma interação complexa entre microorganismos patogênicos e defesa do organismo, cujo desenvolvimento pode ser modificado por fatores locais, condições sistêmicas ou fatores genéticos, sendo considerada a maior responsável por eventuais perdas dentárias em adultos (PAGE; BECK, 1997; SUSIN, 2007). Está bem documentado na literatura o fato de que o acúmulo bacteriano sobre os dentes induz a uma resposta inflamatória nos tecidos gengivais, e que a remoção desse resulta no desaparecimento dos sinais clínicos de inflamação (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; GIANNOPOULOU; KRAUSE; MÜLLER, 2008), no entanto, a presença somente das bactérias não é suficiente para esclarecer os mecanismos fisiopatológicos da destruição tecidual. A resposta do hospedeiro desempenha papel fundamental na patogênese dessa doença, mediante a liberação de mediadores químicos inflamatórios nos tecidos em decorrência da interação celular com os microorganismos e seus produtos (PAGE; BECK, 1997).

A Odontologia atual almeja que a população, além de ter dentes saudáveis, mais medidas vinculadas à qualidade de vida sejam incrementadas. Desta forma, crescente interesse é conferido às pesquisas que relacionam a DP como fator de risco ou indicador de risco para outras doenças. Esta nova forma de entendimento do processo saúde-doença periodontal considera os fatores de ordem comportamental como corresponsáveis pelo processo etiopatogênico dessa doença (BECK *et al.*, 1996; PAGE, 1998).

Com efeito, este estudo buscou elucidar se a PC estava associada a fatores psicossociais como a ansiedade e a depressão, em um modelo de doença periodontal experimental induzida por ligadura (PE). A PE foi induzida pela inserção de um fio de sutura de náilon 3.0 em volta dos segundos molares superiores, de acordo com o estudo LIMA *et al.* (2000). A escolha do rato (*Rattus norvegicus*, *Wistar*), como modelo animal experimental, foi dada à semelhança do seu periodonto ao do homem, tendo como divergência apenas a presença da queratinização do epitélio sulcular (KLAUSEN, 1991). Além disso, constitui alternativa barata, de fácil obtenção e disponibilidade da utilização de várias raças (SUSIN;

ROSING, 2002). Mesmo com o aparente consenso de que a PE pode ser induzida em qualquer região molar (KLAUSEN, 1991), neste experimento, as induções foram feitas em maxilas, as quais são mais suscetíveis às alterações periodontais e por ter sido demonstrado que pouca ou nenhuma perda óssea alveolar (POA) pode ser observada na mandíbula, cuja constituição óssea é mais compacta (CRAWFORD; TAUBMAN; SMITH, 1978).

O uso da ligadura é bastante difundido, no entanto, o dano causado pela colocação do fio de náilon, algodão ou seda, é questionado. Rovin, Costich e Gordon (1966) verificaram que o uso de ligadura em torno dos primeiros molares inferiores de ratos livres de germes, não apresentou evidências de resposta inflamatória; isso constatou o papel principal das bactérias no desenvolvimento da doença. Por sua vez, a possibilidade de destruição dos tecidos periodontais ao trauma e não as bactérias foi avaliada por Sallay *et al.* (1982). Nesse estudo, os animais foram tratados com antibiótico previamente à colocação da ligadura, e, após esta, foi realizado controle de biofilme bacteriano com aplicação de clorexidina, uma vez ao dia. Os resultados mostraram inibição da POA, demonstrando o caráter infeccioso da doença. A ligadura age tanto como um fator promotor da formação do biofilme dental, quanto como por um trauma mecânico na área gengival, provocando achatamento e deslocamento dos tecidos gengivais, bem como reduzindo a integridade tecidual pela ulceração ocasional do epitélio. A iniciação da PE por bactérias é bem documentada e o resultado final, que envolve destruição do osso alveolar e do tecido conjuntivo, foi observada em vários estudos (LIMA *et al.*, 2000; KURT *et al.*, 2004; AZOUBEL *et al.*, 2007). Neste ensaio, esse modelo de PE mostrou-se capaz de reproduzir as principais alterações encontradas na periodontite crônica, tornando-o adequado para o exame dessa doença.

A análise comportamental neste estudo foi verificada no 10º dia da indução da DPE, por meio dos testes de labirinto em cruz elevado-LCE (ansiedade) e do nado forçado (depressão). Observou-se no teste do LCE que a venlafaxina (10 mg/kg) não influenciou o número de entradas nos braços aberto-fechados, bem como o tempo gasto em cada um desses braços, não havendo diferença significativa entre os grupos. Verificou-se, no entanto, no grupo submetido à PE e tratado com venlafaxina (50 mg/kg), aumento no número de entradas e no tempo de permanência dos animais nos braços fechados, mostrando efeito ansiogênico. Dazzi *et al.* (2002) observaram em ratos que os efeitos repetidos da administração da venlafaxina aumentaram a concentração extracelular de norepinefrina no córtex pré-frontal, induzida por estresse ou por substância ansiogênica (FG 7142). Posteriormente, Stahl (2003)

ênfatiou que, dependendo da dose, a venlafaxina apresenta graus diferentes de inibição da recaptação de 5-HT (mais potente, presente com doses mais baixas), da NA (potência moderada, presente com doses maiores) e da Dopamina (menos potente presente apenas com as doses mais altas). Estudo de Handley e Mcblane (1993) mostrou efeito ansiogênico no LCE com um inibidor de recaptação de serotonina, a fluoxetina. Esses autores salientaram que a maior dificuldade associada a esse modelo está na falta de previsibilidade da resposta farmacológica para ansiolíticos de ação serotoninérgica, como a buspirona, que causou efeitos ansiolíticos e ansiogênicos.

Na avaliação do nado forçado, os resultados deste estudo mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos, indicando que a PE não estava associada à depressão, diferindo dos resultados encontrados por Breivik *et al.* (2005) e Breivik *et al.* (2006), os quais mostraram em animais (ratos Wistar), utilizando um antidepressivo (tianeptina), que o estresse, a ansiedade e a depressão podem alterar as respostas do sistema imune aos desafios antigênicos e influenciar a suscetibilidade e resistência a desordens inflamatórias, como a periodontite. Vale salientar que nesse estudo os autores combinaram o modelo de periodontite experimental (PE) com o da depressão (bulbectomia olfatória), e os animais foram tratados previamente aos procedimentos cirúrgicos, enquanto que, no presente estudo, os animais foram tratados no dia da indução da PE, continuando por nove dias. Além disso, essa diferença nos resultados pode ser esclarecida considerando que a venlafaxina, antidepressivo utilizado neste estudo, pertence à classe dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina, noradrenalina (IRSNs), enquanto a tianeptina é um antidepressivo atípico. Em contraste com os antidepressivos tricíclicos (imipramina, amitriptilina) e os inibidores seletivos da recaptação da serotonina-IRSs (fluoxetina, citalopram) é sugerido que a tianeptina diminui a bioatividade da serotonina e a sua acumulação nas sinapses serotoninérgicas do SNC mediante a promoção da recaptação dessa substância, normalizando a neurotransmissão serotoninérgica (UZBAY, 2008; UZBEKOV, 2009).

Contrariamente, em humanos, Persson *et al.* (2003); Solis *et al.* (2004); Castro *et al.* (2006) demonstraram que não existe associação significativa entre PC e fatores psicossociais. Esses resultados podem ser explicados por um dos possíveis mecanismos pelo qual o estresse ou outro fator psicossocial influencia na DP, como hábitos comportamentais, os quais propiciam aos indivíduos que se encontram com algum evento negativo na vida a negligenciarem a sua higiene oral, a intensificarem o uso do fumo ou a

modificarem seus hábitos alimentares, e todas essas mudanças refletem negativamente sobre a função do sistema imunológico, tornando o organismo mais suscetível aos microorganismos patogênicos (GENCO *et al.*, 1998). Por outro lado, outras investigações evidenciaram relevante associação entre fatores psicossociais e periodontite. Vettore *et al.* (2003) mostraram que indivíduos com traços de ansiedade pareciam ser mais propensos à DP e Saletu *et al.* (2005) confirmaram ser a depressão um relevante fator para a periodontite.

Como pode ser observado, a literatura mostra controvérsia no que diz respeito à associação entre DP e fatores psicossociais. Na opinião de Peruzzo *et al.* (2004) os estudos relacionados a fatores psicossociais são de realização difícil, principalmente pela dificuldade de se quantificar e qualificar esses transtornos. Semenoff-Segundo *et al.* (2007) salientaram que uma das possíveis respostas para as divergências encontradas na literatura, provavelmente, decorra das diferenças metodológicas, tais como: a duração do experimento, linhagem dos animais, variedade de modelos, além da forma de leitura e processamento histológico do periodonto e histometria para trabalhos dessa natureza. Convém lembrar que a DP apresenta multifatorialidade, contribuindo para o seu início e a sua evolução não apenas os efeitos deletérios de bactérias e seus produtos, mas também respostas inflamatórias e imunes do hospedeiro. Estudo de Susin (2007) enfatizou que a depressão e o estresse são conhecidos fatores de risco para uma série de doenças e condições na área médica, entretanto, sua relação com as doenças periodontais ainda não está bem estabelecida. Vale lembrar, ainda, que a relação entre DP e saúde sistêmica é uma estrada de mão dupla, com fatores sistêmicos do hospedeiro atuando localmente para reduzir a resistência à destruição periodontal e o desafio bacteriano local, ensejando efeitos amplamente disseminados, com o potencial de induzir resultados sistêmicos adversos.

A POA promovida pela PE pode ser avaliada por métodos morfométrico, histométrico e radiográfico e, embora não esteja estabelecida na literatura qual a melhor forma de detecção da altura óssea alveolar, na maioria dos trabalhos, a avaliação histológica é a mais utilizada. Essa mensuração pode ser realizada de forma linear ou corresponder a uma área (mm²). Na opinião de Kuhr *et al.* (2004), o método de medir a distância linearmente deve ser preferido ao método de avaliação da área. Fernandes *et al.* (2007) compararam medidas da altura óssea na PE induzida por ligadura em ratos pela mensuração histométrica e morfométrica. Os resultados desse estudo mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos de detecção da altura óssea. Na avaliação

histométrica, entretanto, o plano de corte pode eventualmente não corresponder à zona de maior perda óssea, enquanto na avaliação morfométrica o ponto com maior perda óssea em maxilas ou mandíbulas descarnadas pode ser visualizado.

O curso temporal da PE em ratos é investigado por vários autores. Sallay *et al.* (1982) verificaram que animais mortos nove dias após a indução da doença experimental apresentavam intensa destruição óssea. Posteriormente, De Lima (1999) mostrou em diferentes intervalos de tempo (6 e 24 horas, 3°, 7°, 11° e 14° dias) que a reabsorção óssea alveolar ocorria a partir do 3° dia da indução da doença, atingindo o seu valor máximo entre o 7° e 11° dia, sendo esse último o dia no qual foi observado o maior índice de perda óssea. No 14° dia foi verificado que a destruição óssea alveolar ainda era significativa em relação ao grupo-controle, no entanto, em menor magnitude do que a observada nos dias 7 e 11° após a indução da periodontite experimental. Bezerra *et al.* (2009) observaram a evolução da PE nos períodos de sete, 14, 21 e 28 dias, tendo sido verificada também maior POA nos animais do intervalo de sete dias em relação aos demais períodos, estando de acordo com os estudos de SALLAY *et al.* (1982) e LIMA *et al.*, (2000). Nos demais períodos avaliados (14, 21 e 28 dias), foi observada uma redução na velocidade da POA, que pode ser resultante da erupção passiva dos dentes dos animais, e com o próprio distanciamento da ligadura em relação à margem gengival (KUHR *et al.*, 2004). Neoformação óssea, inclusive com nova junção dentoepitelial subjacente à ligadura, após 14 dias de experimento, foi observada por Sallay *et al.* (1982). Esses dados estão em consonância com um dos aspectos de grande importância na DP, enfatizado por Socransky *et al.* (1984) para quem a periodontite evoluía em episódios de exarcebação e regressão, o que denominaram de “hipótese da explosão”. Na fase latente, a lesão entra em remissão, quando o dano tecidual e o reparo estão em equilíbrio, de maneira a impedir a progressão da doença.

No experimento ora sob relato a POA foi avaliada mediante análises morfométrica e histopatológica. Foi constatado no 11° dia da indução da PE, o fato de que a colocação de fio de náilon em volta dos segundos molares superiores esquerdos dos ratos causou significativa POA, em comparação ao grupo controle FO, a qual pode ser vista na reabsorção óssea alveolar (restando apenas fragmento ósseo) e exposição das raízes. A observação macroscópica nas maxilas com PE, tanto pelo lado vestibular como palatino, mostrou maior aumento no IPO na superfície vestibular. Isso pode ter decorrido da posição do fio de náilon após a sua colocação, pois o nó que uniu as pontas estava voltado para a face

vestibular. Quando o infiltrado inflamatório foi considerado na análise histopatológica dos tecidos gengivais, observou-se infiltrado mononuclear acentuado (linfócitos e macrófagos).

A DP é tratada de maneira satisfatória por intermédio de um adequado controle do biofilme dental, e os resultados do tratamento podem ser mantidos por meio da terapia periodontal de suporte (manutenção da saúde). Em outros casos, o processo de perda óssea continua mesmo com todo o rigor no controle desse biofilme. Deste modo, o desafio é encontrar um tratamento coadjuvante que venha controlar/minimizar a DP, e, por sua vez a POA, decorrente dessa enfermidade. Assim, diversas substâncias são utilizadas em pesquisa periodontal, utilizando esse modelo de PE, na busca de prevenir ou inibir essa perda óssea. Lima *et al.* (2000) verificaram que o uso de Clorpromazina (potente agente antipsicótico, que inibe os receptores dopaminérgico pós-sináptico) mostrou atividade anti-inflamatória reduzindo a POA, provavelmente, pelo bloqueio do TNF- α . Outros estudos mostraram resultados semelhantes. Menezes *et al.* (2005) utilizaram o aledronato de sódio e verificaram que essa substância preveniu a POA. Os autores ressaltaram que esse resultado decorreu dos efeitos anti-inflamatório e antimicrobiano apresentados por esse fármaco.

Breivik *et al.* (2005) observaram que o tratamento crônico com um receptor antagonista (MK-801) reduziu os níveis de TNF- α . Em outros estudos, Breivik *et al.* (2006; Breivik *et al.*, 2006) observaram que o tratamento com a tianeptina inibiu a POA, a qual pode ser constatada em radiografias. Posteriormente, Azoubel *et al.* (2007) mostraram os efeitos do etoricoxibe (inibidor seletivo de COX-2) e da indometacina (inibidor não seletivo da ciclooxigenase). A análise histopatológica mostrou que essas substâncias reduziram a infiltração de células inflamatórias, a destruição de fibras colágenas e a POA.

Ante tais investigações, e com a utilização recente de um antidepressivo para avaliar a suscetibilidade à periodontite em ratos nesse modelo de PE (BREIVIK *et al.*, 2006), este estudo utilizou (como já salientado) como abordagem farmacológica inicial a venlafaxina, pois, além de ser classificada como um inibidor seletivo da recaptação da serotonina e noradrenalina-ISRNs (BERNIK, 2003), foram atribuídas a essa substância propriedades anti-inflamatória (VOLLMAR *et al.*, 2008) e antioxidante (EREN *et al.*, 2007; ZAFIR; BANU, 2007; KUMAR; GARG, 2008). O mecanismo de ação da venlafaxina lembra a de outros antidepressivos conhecidos (fluoxetina, paroxetina), já que está diretamente associado à potenciação da atividade neurotransmissora no SNC, inibindo a recaptação da

serotonina, da noradrenalina e da dopamina (FEIGHNER, 1994; LEMKE, 2007). Neste estudo, observou-se que o tratamento com venlafaxina (10 mg/kg) apesar de ter uma tendência não inibiu a POA, e na dose de 50 mg/kg houve um aumento significativo dessa perda óssea. Esses resultados também diferem dos encontrados por Breivik *et al.* (2006), em que o uso de um antidepressivo (tianeptina) inibiu significativamente a POA em ratos com PE. Como já salientado, contrastando com os antidepressivos tricíclicos e os IRSs, a tianeptina promove a recaptação de serotonina (UZBAY, 2008; UZBEKOV, 2009). Por sua vez, é sugerido que os IRSs são fatores contributivos potenciais para perda óssea e fraturas, apresentando efeito negativo sobre o metabolismo ósseo (WARDEN; HANEY, 2008; HANEY; WARDEN; BLIZIOTES, 2009). Um dos mecanismos pelo qual o 5-HT influencia o metabolismo ósseo levando à redução da formação óssea pode estar relacionado à diminuição da proliferação dos osteoblastos (YADAN *et al.*, 2008). Outra hipótese refere-se à inibição da liberação do óxido nítrico (WESTBROEK *et al.*, 2001). A venlafaxina, que tem um mecanismo de ação oposto ao da tianeptina, isto é, envolve a inibição sináptica da recaptação da serotonina, explica claramente o seu efeito dose-dependente sobre a POA, observada neste estudo. Assim, foi mostrado pela primeira vez que esse fármaco (venlafaxina, IRSNs) é suscetível de agravar a POA na PE, quando utilizada em dose mais elevada.

A análise histopatológica mostrou infiltração mononuclear acentuada (linfócitos e monócitos), reabsorção do processo alveolar (restando apenas fragmento ósseo) e destruição do cimento, tanto no grupo de animais submetidos à PE e tratados com veículo (água) como no grupo submetido à PE e tratado com venlafaxina.

Existem muitos paradigmas sobre a fisiopatologia da DP (periodontites), mas, desde o momento em que há agressão tecidual e a defesa inata é deflagrada, mediadores inflamatórios como as interleucinas (IL-6, IL-1), prostaglandinas (PG), principalmente, a PGE2 e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), são liberados no local afetado e esses irão modular uma série de eventos no transcorrer da resposta inflamatório-imunológica, como o aumento na formação e ativação osteoclástica ou a inibição da função osteoblástica. A liberação desses mediadores tem resultado na destruição da matriz extracelular do tecido periodontal e, indiretamente, à reabsorção óssea alveolar, por promoverem a diferenciação dos osteoclastos (GENCO, 1992; GRAVES; COCHRAN, 2003), caracterizando a periodontite crônica. A identificação desses mediadores químicos pode contribuir na avaliação da progressão da DP, bem como auxiliar no monitoramento da resposta tecidual ao

tratamento (GRAVES; COCHRAN, 2003). Corroborando essas observações estudo de Assuma *et al.* (1998) também demonstrou que a presença e a ativação de células inflamatórias no exudato periodontal causaram liberação de vários mediadores inflamatórias, como as citocinas, que estimulam a reabsorção óssea diretamente, por induzir a proliferação de progenitores de osteoclastos e, indiretamente, por estimular a atividade de reabsorção dos osteoclastos maduros. Foi observado o fato de que 80% do recrutamento das células inflamatórias e 60% da perda óssea que ocorrem na periodontite podem ser inibidas pelo bloqueio do TNF e IL-1, e esse efeito pode ocorrer em virtude da função como mediadores primários na resposta inflamatória. Mais recentemente, Lima *et al.*, (2004); Di Paola *et al.* (2007) demonstraram também que quando o TNF- α é inibido há uma redução significativa da POA. Kubera *et al.* (2004) mostraram um efeito estimulante da venlafaxina na produção de IL-6, considerada uma citocina envolvida com a reabsorção óssea (TIPTON *et al.*, 2003).

Evidências sugerem uma relação entre a produção de NO e DP. Hukkanen *et al.* (1995) salientaram que, na periodontite, a expressão do óxido nítrico sintase induzível - iNOS pode apresentar diferentes efeitos nos tecidos. Esses podem ser benéficos, como atividade antimicrobiana, ou podem ser prejudiciais, como uma ação citotóxica, incluindo a reabsorção óssea alveolar em razão do efeito estimulante do NO sobre a atividade dos osteoclastos. Lohinai *et al.* (1998) mostraram aumento da atividade de iNOS no modelo de DPE. Mais recentemente Leitão *et al.* (2005) mostraram que a inibição de iNOS diminuiu a POA no modelo de DPE. Esse efeito estava associado com a redução local da inflamação. Em humanos, Gaspirc, Masera e Skaleric (2002) constataram a presença e atividade de iNOS em tecido gengival inflamado.

Neste estudo, observou-se marcada expressão para TNF- α e iNOS no periodonto de ratos submetidos à PE quando comparado ao periodonto do grupo FO, reforçando a participação de ambos no processo e desenvolvimento da PE e da POA. Este resultado está de acordo com outros estudos (ASSUMA *et al.*, 1998; LIMA *et al.* 2004; Di Paola *et al.*, 2007; LOHINAI *et al.*, 1998; LEITÃO *et al.*, 2005), contudo, o tratamento com venlafaxina não reduziu estes efeitos. Vollmar *et al.* (2009) verificaram em ratos que a venlafaxina melhorou os sintomas clínicos da esclerose múltipla, possivelmente por suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-12), p40, TNF- α e interferon. Esses resultados diferem dos encontrados neste trabalho, provavelmente, devido à razão das diferenças nos modelos

experimentais utilizados e nos protocolos dos tratamentos, em que a venlafaxina foi administrada em uma dose mais alta (60 mg/hg) em um período mais longo (14 dias).

Estudos demonstram uma relação entre DP e estresse oxidativo (EO). Triana, Bernabeu e Febles (2002) enfatizaram a relação do EO na DP e sua relação com outras enfermidades sistêmicas, o que pode ter um profundo impacto na qualidade da saúde oral. Desta maneira, o estabelecimento de terapias antioxidantes ajudaria a atenuar ou eliminar a completa rede de interações patológicas que pudessem ser estabelecidas. Na mesma expectativa, Giannopoulou, Krause e Müller (2008), destacaram em estudo realizado em humanos, a importância do EO tanto na saúde quanto na DP. De acordo com esses autores, a nicotinamida adenina dinucleotide fosfato oxidase-NOX₂, oriunda dos fagócitos, é, provavelmente, uma das principais fontes de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos tecidos periodontais. Assim, a compreensão do envolvimento dessa enzima poderá proporcionar novas estratégias de tratamento para a periodontite.

Kumar e Garg (2008) mostraram que o tratamento com a venlafaxina atenuou o aumento da peroxidação lipídica, mostrando o potencial papel dessa substância contra prejuízos oxidativos. A ação antioxidante da venlafaxina também foi objeto de estudo nesta pesquisa. O ensaio das substâncias acidorreativas tiobarbitúricas (TBARS) é um teste comumente utilizado para medir a atividade de radicais livres - RL (TÜTER; KURTIS; SERDAR, 2001). Panjamurthy; Manohoran e Ramachadran (2005) observaram que indivíduos com periodontite apresentavam um nível de TBARS significativamente mais alto do que outros com gengivas saudáveis, sugerindo que essas substâncias estão estritamente associadas com o estado periodontal, e suas mensurações poderão ajudar no tratamento e monitoramento da progressão da DP. Neste estudo, foi verificado que os animais submetidos à PE apresentaram uma concentração elevada de peroxidação lipídica, resultado consistente com observações anteriores (Di PAOLA *et al.*, 2004; PANJMURTHY; MANOHARAN; RAMACHADRAN, 2005; HOLANDA PINTO *et al.*, 2008). O tratamento com venlafaxina (10 mg/kg) reduziu significativamente essa concentração, estando de acordo com o estudo de Kumar e Garg (2008).

O efeito da vitamina E (alfa-tocoferol) na POA e no processo inflamatório induzido pela PE, foi verificado neste estudo, porque, além de ser descrita como um eficaz estimulador da resposta imune humoral (TENGERDY *et al.*, 1973) mostra propriedade

anti-inflamatória (COHEN; MEYER, 1993). Os resultados mostraram que, no grupo de animais submetido à PE e tratado com vitamina E (500 mg/kg), o infiltrado celular inflamatório foi reduzido, sendo consistente com os estudos de Cohen e Meyer (1993) e Schneider e Pose (1969), contudo, a vitamina E não preveniu a POA, esses resultados estão de acordo com os Parrish, DeMarco e Bissada (1977), mas divergente do resultado de Cohen e Meyer (1993), onde foi verificado que uma dieta com suplementação de vitamina E, pode reduzir a POA, em ratos submetidos a estresse prolongado.

Anteriormente foi salientado que o ensaio de imuno-histoquímica neste estudo demonstrou que houve participação significativa do TNF- α e iNOS no processo inflamatório induzido pela doença experimental, observada pelo aumento da imunomarcção tecidual no grupo de animais submetidos à PE. O tratamento com vitamina E não reverteu o aumento da imunomarcção para TNF- α , entretanto, foi observada diminuição da imunomarcção para iNOS no periodonto dos animais submetidos à DPE e tratados com vitamina E. Este resultado está de acordo com o estudo de Yoshida *et al.* (2008), no qual foi observado em ratos que o uso do alfa-tocoferol suprimiu a expressão iNOS.

Considerando a relação entre EO e DP, o efeito antioxidante da vitamina E sobre os tecidos periodontais foi observado também neste estudo. Espécies reativas de oxigênio (EROs) são implicadas na patogênese de várias doenças, incluindo a DP. Elas podem ser geradas pela cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, cadeia de mitocôndrias e ativação de leucócitos polimorfonucleares (PMN) em condições inflamatórias. O excesso na geração desses compostos pode resultar no ataque e danos da maior parte dos componentes extracelulares e intracelulares e, além disso, podem diretamente induzir e/ou regulamentar a morte celular por apoptose com necrose secundária (CHAPPLE, 1997; JARNBRING *et al.*, 2002). As EROs também são produzidas pelos osteoclastos, células responsáveis pela destruição óssea, desempenhando um papel na remodelação do osso alveolar tanto na doença como na saúde, sendo ainda capazes de degradar proteoglicanos do osso alveolar (MOSELEY *et al.*, 1998).

Recentemente, foi demonstrado que EO pode causar POA e que o uso de um antioxidante (N-acetylcysteine) pode exercer um efeito inibitório na POA (OHNISHI *et al.*, 2009). O efeito antioxidante da vitamina E, neste estudo, foi avaliado mediante a verificação da peroxidação lipídica (TBARS) e da enzima superóxido-dismutase (SOD). Os resultados

mostraram que o tratamento com a vitamina E inibiu o aumento da peroxidação lipídica produzida pela PE. Estudo de Sheikhi *et al.* (2001) mostrou que a peroxidação lipídica causada pelos radicais de oxigênio de *Fusobacterium* estimulada por neutrófilos poderia ser neutralizada pela vitamina E. Foi observado neste estudo decréscimo da atividade da SOD no grupo de animais submetidos à PE e tratados com vitamina E. Outras investigações corroboraram este resultado. Sheikhi *et al.* (2001) demonstraram que a produção de superóxido por neutrófilos foi reduzida após a adição de vitamina E. Araújo (2006) mostrou em ratos que o tratamento com vitamina E (20 mg/dia, 28 dias) fez diminuir a atividade da SOD. Em humanos, Antoniadis *et al.* (2008) verificaram que o uso de α -tocoferol (500 mg/kg, 12 meses) fez reduzir a atividade da SOD. Na literatura são mencionadas diferentes dosagens na administração dessa substância. Segundo Kappus e Diplock (1992), a vitamina E tem a grande vantagem de apresentar baixa toxicidade em doses diárias de até 800 mg, não induzindo efeitos adversos em humanos.

O tratamento crônico com antioxidantes pode beneficiar a cognição em humanos e animais, provavelmente pela diminuição EO (MARTIN *et al.*, 2002), entretanto, estudos demonstram que o uso da vitamina E (alfa-tocoferol) pode estar associada com estados de ansiedade em animais. Kolosova, Trofimova e Fursova (2006) demonstraram que a vitamina E aumentou a ansiedade de forma significativa em ratos Wistar, a qual foi observada pelo teste de Labirinto em cruz elevado (LCE). Recentemente, Hugnes e Collins (2009) também observaram em ratos, porém, em outros modelos comportamentais (campo aberto e transição claro-escuro) esse mesmo efeito da vitamina E (alfa-tocoferol). Neste estudo, embora a PE não esteja associada à ansiedade, observou-se um efeito ansiogênico da vitamina E, corroborando os trabalhos anteriores. Em relação à depressão, não houve diferença do tratamento.

Estudos indicam que nem todos os efeitos da vitamina E são devidos a sua ação antioxidante, a vitamina E, pode agir por mecanismos de transdução de sinal mediado por proteína quinase C e fosfatidilinositol-3-quinase e assim está envolvida na regulação da expressão gênica (AZZI *et al.*, 2004). Mudanças na atividade destas quinases estão associadas com alterações na proliferação celular, agregação plaquetária e ativação da NADPH-oxidase. Vários genes são regulados pela vitamina E, como os envolvidos na captação e degradação de lipídios e aterosclerose (CD36, SH-BI), genes envolvidos na modulação de proteínas extracelulares (trombosina, colágeno, metaloproteinase), genes envolvidos com moléculas

de adesão e inflamação (E-selectina, ICAM-1, TGF- β e integrinas), dentre outros (AZZI *et al.*, 2004). Também neste sentido já foi demonstrado que um decréscimo no conteúdo de vitamina E, modifica a expressão de vários genes no cérebro, causando mudanças na plasticidade neuronal (GOHIL *et al.*, 2003).

Em relação à massa corpórea dos animais submetidos à PE, foi observado neste estudo perda de massa corpórea nos primeiros dias da indução da doença experimental. Após essa fase, foi observada uma tendência à estabilização da massa corpórea dos animais. Estudos anteriores mostraram esses mesmos resultados (LIMA *et al.*, 2004; MENESES *et al.*, 2005). Quanto aos tratamentos com venlafaxina e vitamina E não foram observadas modificações desse parâmetro, a despeito de ter sido demonstrado recentemente em ratos que a vitamina E exibe uma ação anabólica sobre o osso (SHUID *et al.*, 2009).

Em conclusão, os resultados deste experimento mostraram que o modelo de PE foi capaz de reproduzir os principais aspectos da doença periodontal crônica (PC), que a lesão tecidual está associada a resposta inflamatória, imunomarcação aumentada de TNF- α e iNOS e com POA. Os tratamentos com venlafaxina e vitamina E não protegerem a POA decorrente da PE. Em razão das recentes investigações que mostraram a influência dos antidepressivos ISRSs no metabolismo ósseo, e do resultado deste estudo, onde foi demonstrado que a venlafaxina (IRSNs) é suscetível de agravar a POA na PE, quando utilizada em dose mais elevada, o momento é de alerta em relação ao uso desses medicamentos em indivíduos com história de osteoporose e fraturas, uma vez que esses fármacos ainda não constam na lista dos medicamentos que podem contribuir para esses eventos. Atenção também deve ser dada ao uso indiscriminado de antioxidantes, como a vitamina E, que há anos é estudada, mas que pode causar reações inesperadas, como o aumento da ansiedade. Estudos futuros deverão abordar mais sobre outros antidepressivos (ISRSs, IRSNs) e antioxidantes.

A PE não induziu a um estado de ansiedade e depressão em ratos. Isto faz com que se reflita que, apesar de todos os conhecimentos e com as inúmeras investigações, muitos aspectos da DP (periodontites) permanecem sem uma resposta conclusiva. Como a associação da periodontite crônica com os fatores psicossociais, certamente, a doença periodontal envolve uma série de fatores para o restabelecimento e manutenção da saúde periodontal.

9 CONCLUSÕES

- O modelo de PE induzida por ligadura em rato utilizado neste estudo foi capaz de reproduzir os principais aspectos da PC, sendo assim, ferramenta importante em pesquisa periodontal.

- Os tratamentos com a venlafaxina e a vitamina E, não inibiram à POA, decorrente da PE.

- A PE aumentou a imunomarcção para TNF- α e iNOS nos tecidos periodontais. O tratamento com vitamina E diminuiu a imunomarcção para iNOS.

- A vitamina E inibiu o aumento da peroxidação lipídica produzida pela PE.

- Não houve associação entre PE e fatores psicossociais (ansiedade e depressão).

- A vitamina E apresentou efeito ansiogênico.

- A venlafaxina (IRSNs) é suscetível de agravar POA na PE, quando utilizado em dose mais elevada.

- Nos animais submetidos à PE houve uma perda de massa corpórea, nos primeiros dias da indução da PE. Os tratamentos com a venlafaxina e com a vitamina E não modificaram esse parâmetro

REFERÊNCIAS

ALMEIDA FILHO, N. de; MARI, J. de J.; COUTINHO, E.; FRANÇA, J. F.; FERNANDES, J. G.; ANDREOLI, S. B.; BUSNELLO, E. D. Estudo multicêntrico de morbidade psiquiátrica em áreas urbanas brasileiras (Brasília, São Paulo, Porto Alegre). **Rev. ABP-APAL**, v. 14, n. 3, p. 93-104, jul./set. 1992.

ALMEIDA, J. M.; FERNANDES, L. A.; BONFANTE, S.; MARTINS, T. M.; LUIZE, D. S.; MACARINI, V. C.; BOSCO, A. F.; GARCIA, V. G. Avaliação radiográfica do comportamento do tecido ósseo alveolar após procedimento de indução de doença periodontal em ratos. **Rev. Periodontia**, v. 17, n. 4, p.85-91, dez. 2007.

ANTONIADI, G.; ELEFThERIADIS, T.; LIAKOPOULOS, V.; KAKASI, E.; CHARALAMBOS KARTSIOS, C.; PLOUMIS PASSADAKIS, P.; VASSILIS VARGEMEZIS, V. Effect of One-year Oral a-Tocopherol Administration onthe Antioxidant Defense System in Hemodialysis Patients. **Ther. Apher. Dial.**, v. 12, n. 3, p. 237–242, June 2008.

ARAÚJO, A. S. R. **Influência do estresse oxidativo no desenvolvimento da hipertrofia e insuficiência cardíaca induzida pelo hipertireoidismo em ratos**. 2006. 116 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

ARAÚJO, M.; SUKEKAVA, F. Epidemiologia da doença periodontal na América Latina. **Rev. Periodontia**, v. 17, n.2, p.7-11, jun. 2007.

ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann. Periodontol.**, v. 4, n. 1, p. 1-6, Dec. 1999.

ASSUMA, R.; OATES, T.; COCHRAN, D.; AMAR, S.; GRAVES, D. T. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. **J. Immunol.**, v. 160, p. 403-409, 1998.

ATMACA, M.; TEZCAN, E.; KULOGLU, M.; USTUNDAG, B.; TUNCKOL, H. Antioxidante enzyme and malondialdehyde values in social phobia before and after citalpram treatment. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.**, v. 254, p. 231-235, Aug. 2004.

AZZI, A.; GYSIN, R.; KEMPNA, P.; MUNTEANU, A.; NEGIS, Y.; CORTA, L.V.; T.; VISARIUS, T.; ZINGG, J.M. Vitamin E Mediates Cell Signaling and Regulation of Gene Expression. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, n.1031, p. 86–95, Dec.2004.

AZOUBEL, M. C. F.; MENEZES, A. M. A.; BEZERRA, D.; ORIÁ, R. B.; RIBEIRO, A.; G. A. C. Brito. Comparison of etoricoxib and indomethacin for the treatment of experimental periodontitis in rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40, n. 1, p. 117-125, Jan. 2007.

BAKER, E. G.; CROOK, G. H.; SCHWABACHER, E. D. Personality correlates of periodontal disease. **J. Dental Res.**, v. 6, p. 396-403, 1961.

BATTINO, M.; BOMPADRE, S.; POLITI, A.; FIORONI, M.; RUBINI, C.; BULLON, P. Antioxidant status (CoQ10 and Vit. E levels) and immunohistochemical analysis of soft tissues in periodontal diseases. **Biofactors**, v. 25, n. 1-4, p. 213-217, 2005.

BATTINO, M.; BULLON, P.; WILSON, M.; NEWMAN, H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 10, n. 4, p. 458-476, 1999.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and assay applicable to acrylamide gels. **Anal. Biochem.**, v. 44, n. 1, p. 276-287, Nov. 1971.

BECK, J. D.; OFFENBACHER, S.; WILLIAMS, R., GIBBS, P.; GARCIA, R. Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease? **Ann. Periodontol.**, v. 3, n. 1, p. 127-141, July 1998.

BECK, J.; GARCIA, R.; HEISS, G.; VOKONAS, P. S.; OFFENBACHER, S. Periodontal disease and cardiovascular disease. **J. Periodontol.**, v. 67, n. 10, p. 1123-1137, Oct. 1996.

BECK, M. A.; HANDY, J.; LEVANDER, O. A. The role of oxidative stress in viral infections. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 917, p. 906-912, 2000.

BECK, M. A.; KOLBEC, P. C.; ROHR, L. H.; SHI, Q.; MORRIS, V. C.; LEVANDER, O. A. Vitamin E deficiency intensifies the myocardial injury of coxsackievirus B3 infection in mice. **J. Nutr.**, v. 124, n. 3, p. 345-358, Mar. 1994.

BECKER, S.; WOJTOWICZ, J. M. A model of hippocampal neurogenesis in memory and mood disorders. **Trends Cogn. Sci.**, v. 11, n. 2, p. 70-76, Feb. 2007.

BEHL, Y.; SIQUEIRA, M.; ORTIZ, J.; LI, J.; DESTA, T.; FAIBISH, D.; GRAVES, D. T. Activation of the acquired immune response reduces coupled bone formation in response to a periodontal pathogen. **J. Immunol.**, v. 181, n. 12, p. 8711-8718, Dec. 2008.

BENATTI, B. B.; CARVALHO, M. D.; GETÚLIO, R. N. F.; SALLUM, E. A.; SALLUN, A. S.; NOCITI, F. H. J. Estudo da relação entre estresse e a formação de compostos sulfurados voláteis (CSV) durante a periodontite experimental induzida em ratos: um estudo piloto. **Rev. Periodontia**, v. 15, n. 1, p. 14-16, mar. 2005.

BENATTI, B. B.; NOGUEIRA-FILHO, G. R.; DINIZ, M. C.; SALLUM, E. A.; SALLUM, A. W.; NOCITI, F. H. Stress may enhance nicotine effects on periodontal tissues. An *in vivo* study in rats. **J. Periodontal Res.**, v. 38, n. 3, p. 351-353, June 2003.

BERNARD, M. B. Phagocytes and oxidative stress. **Am. J. Med.**, v. 109, n. 1, p. 33-44, July 2000.

BERNIK, M. Neurobiologia da depressão. *In*: MORENO, D. H.; BERNIK, M.; MATTOS, P.; CORDÁS, T. A. **Recuperação em depressão**. São Paulo: Livre, 2003. cap. 4, p. 41-52.

BERNIK, M. Tratamento farmacológico da depressão. *In*: MORENO, D. H.; BERNIK, M.; MATTOS, P.; CORDÁS, T. A. **Recuperação em depressão**. São Paulo: Livre, 2003. cap. 8, p. 89-105.

BERTO, P.; D'ILARIO, D.; RUFFO, P.; Di VIRGILIO, R.; RIZZO, F. Depression: cost-of-illness studies in the international literature, a review. **J. Ment. Health Policy Econ.**, v. 3, n. 1, p. 3-10, Mar. 2000.

BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 7, n. 2, p. 137-151, Feb. 2006.

BEZERRA, B. B.; CASATI, M. Z.; NOCITI, F. H. J.; SALLUM, E. A.; SALLUM, A. A. Dieta hiperlipídica e sua influência na evolução da doença periodontal experimental em ratos - resultados preliminares. **Rev. Periodontia**, v. 19, n. 01, p. 65-69, março, 2009.

BEZERRA, M. M.; LIMA, V.; de MENEZES ALENCAR, V. B.; VIEIRA, I. B.; de CASTRO BRITO, G. A.; de ALBUQUERQUE RIBEIRO, R.; da ROCHA, F. A. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 71, n. 6, p. 1009-1014, June 2000.

BIONDI, M.; ZANNINO, L. G. Psychological stress, neuroimmunomodulation, and susceptibility to infectious diseases in animals and man: a review. **Psychother. Psychosom.**, v. 66, n. 1, p. 3-26, 1997.

BORGES-YÁÑES, S. A.; IRIGOYEN-CAMACHO, M. E.; MAUPOMÉ, G. Risk factors and prevalence of periodontitis in community dwelling elders in México. **J. Clin. Periodontol.**, v. 33, n. 3, p. 184-194, Mar. 2006

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G. C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH, J.; RAO, V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40, n. 3, p. 349-356, Mar. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa de saúde bucal**. Brasília, DF, 2004.

BREIVIK, T.; GUNDERSEN, Y.; MYHRER, T.; FONNUM, F.; OSMUNDSSEN, H.; MURISON, R.; GJERMO, P.; Von HÖRSTEN, S.; OPSTAD, P. K. Enhanced susceptibility to periodontitis in an animal model of depression reversed by treatment with the anti-depressant tianeptine. **J. Clin. Periodontol.**, v. 33, n. 7, p. 469-477, July. 2006.

BREIVIK, T.; GUNDERSEN, Y.; OSMUNDSSEN, H.; FONNUM, F.; OPSTAD, P. K. Neonatal dexamethasone and chronic tianeptine treatment inhibit ligature-induced periodontitis in adult rats. **J. Periodontol. Res.**, v. 41, n. 1, p. 23-32, Feb. 2006.

BREIVIK, T.; GUNDERSEN, Y.; OSMUNDSSEN, H.; OPSTAD, P. K.; FONNUM, F. Chronic treatment with the glutamate receptor antagonist MK-801 alters periodontal disease susceptibility. **J. Periodontol. Res.**, v. 40, n. 1, p. 28-35, Feb. 2005.

BREIVIK, T.; SLUYTER, F.; HOF, M.; COOLS, A. Differential susceptibility to periodontitis in genetically selected Wistar rat lines that differ in their behavioral and endocrinological response to stressors. **Behav. Genet.**, v. 30, n. 2, p. 123-130, Mar. 2000.

BRUNETTI, M. C.; MORAES, R. G. B.; MORAIS, T. M. N. Periodontia Médica: uma mudança de paradigma na odontologia. *In*: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia: teoria e prática**. 1.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007. cap. 22, p. 323-334.

CAMILOTTI, A. G.; ROCHA, A. L. R.; NOCITI, J. H. F.; BORSATO, K. S.; RACHED, R. N.; GRÉGIO, A. M. T.; MACHADO, M. A. N. Avaliação radiográfica do efeito do meloxicam e cetroprofeno na periodontite induzida por ligadura. **Rev. Periodontia**, v. 15, n. 2, p. 5-8, jun. 2005.

CASTRÉN, E. Is mood chemistry? **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 6, n. 3, p. 241-246, Mar. 2005.

CASTRÉN, E.; VOIKAR, V.; RANTAMAKI, T. Role for neurotrophic factors in depression. **Curr. Opin. Pharmacol.**, v.7, n.1, p. 18-21, 2007.

CASTRO, G. D.; ALCHIERI, J. C.; OPPERMAN, R. V. Fatores psicossociais e doença periodontal: critérios importantes na indicação dos testes psicológicos. **Rev. Periodontia**, v. 115, n.1, p.28-35, mar. 2005.

CASTRO, G. D. C.; OPPERMAN, R. V.; HASS, A. N.; WINTER, R.; ALCHIERI, J. C. Association between psychosocial factors and periodontitis: a case-control study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 33, n. 2, p. 109-114, Feb. 2006.

CAVAGNI, J.; SOLETTI, A. C.; GAIO, E. J.; RÖSING, C.K. The effect of dexamethasone in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. **Braz. Oral Res.**, v. 19, n. 4, p. 290-294, 2005.

CHAPPLE, I. L. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 287-296, 1997.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.

CHROUSOS, G. P. The stress response and immune function: clinical implications. The 1999 Novera H. Spector Lecture. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 917, p. 38-67, 2000.

CIZZA, G; PRIMMA, S; CSAKO, G. Depression as a risk factor for osteoporosis. **Trends Endocrinol. Metab.**, v.20, p. 367-373, 2009.

COBB, C. M.; WILLIAMS, K. B.; GERKOVITCH, M. M. Is the prevalence of periodontitis in the USA in decline? **Periodontol.** 2000, v. 50, n. 1, p. 13-24, June 2009.

COHEN, M. E.; MEYER, D. M. Effect of dietary vitamin E supplementation and rotational stress on alveolar bone loss in rice rats. **Arch. Oral Biol.**, v. 38, n. 7, p. 601-606, July 1993.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Legislação e ética.** Disponível em: < [http:// www.cobea.org.br/ética.htm](http://www.cobea.org.br/ética.htm)>. Acesso em: 24 mar. 2006.

CORDIOLI, A. V.; SCHWARTZHAUPT, A. W.; PÁDUA, A. C.; KRUTER, B. C.; GAMA, C. S. Medicamentos: informações básicas. In: _____. **Psicofármacos**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.

CORRÊA, D. S.; COSTA, F. O.; ZENÓBIO, E. G.; BARBOSA, F. I.; CUNHA, F. A. Padrão intrafamiliar da doença periodontal: distribuição e análise das variáveis de risco sociais e comportamentais. **Rev. Periodontia**, v. 15, n. 3, p. 30-38, set. 2005.

CORTELLI, J.R.; FERES, M.; FIGUEIREDO, C. M. S.; FISCHER, R. G.; FUKUDA, C. T.; GOMES, S. C.; MARCANTONIO, R. A. C.; PALLOS, D.; TINOCO, E. M. B. Diagnóstico em periodontia. **Rev. Periodontia**, v. 15, n. 4, p. 78-99, dez. 2005.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, n. 5418, p. 1318-1322, May. 1999.

COYLE, J. T.; DUMAN, R. S. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. **Neuron**, v. 38, n. 2, p. 157-160, Apr. 2003.

CRAWFORD, J. M.; TAUBMAN, M. A.; SMITH, D. J. The natural history of periodontal bone loss in germ free and gnotobiotic rats infected with periodontopathic microorganisms. **J. Periodontal. Res.**, v. 13, n. 5, p. 316-325, Sept. 1978.

CROSATO, E. M.; BIAZEVIC, M. G. H.; CROSATO, E. Prevalência de doença periodontal e sua relação com escovação dentária: um estudo de base populacional em Eral Velho-SC. **Rev. Periodontia**, v. 15, n. 3, p. 5-13, set. 2005.

DAVE, S.; BATISTA, E. L.; VAN DYKE, T. E. Cardiovascular disease and periodontal diseases: commonality and causation. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 25, n. 7, suppl. 1, p. 26-37, July 2004.

DAZZI, L.; VIGNONE, V.; SEU, E.; LADU, S.; VACCA, G.; BIGGIO, G. Inhibition by venlafaxine of the increase in norepinephrine output in rat prefrontal cortex elicited by acute stress or by the anxiogenic drug FG 7142. **J. Psychopharmacol.**, v.16, n.2, p. 125-131, June 2002.

De LIMA, V. **Efeito de moduladores da produção de citocinas (clorpromazina, pentoxifilina, talidomida e dexametasona) na doença periodontal experimental induzida por corpo estranho.** 1999. 150 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

DE OLIVEIRA, R. A. A.; CUNHA, G. M. A.; BORGES, K. D. M.; BRUIN, E. A. S. F.; VIANA, G. S. B.; BRUIN, V. M. S. The effect of venlafaxine on behaviour, body weight and striatal monoamine levels on sleep-deprived female rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 74, p. 499-506, 2004.

DEMMER, R. T.; DESVARIEUX, M. Periodontal infections and cardiovascular disease: the heart of the matter. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 137, suppl., p. 14S-20S, 2006.

DEVARAJ, S.; LEONARD, S.; TRABER, M.G.; JIALAL, I. Gamma-tocopherol supplementation alone and in combination with alpha-tocopherol alters biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 44, n.6, p.1203-1208, Mar. 2008.

DI PAOLA, R.; MARZOCCO, E.; MAZZON, E.; DATTOLA, F.; ROTONDO, F.; BRITTI, D.; De MAJO, M.; GENOVESE, T.; CUZZOCREA, S. Effect of aminoguanidine in ligature-induced periodontitis in rats. **J. Dent. Res.**, v. 83, n. 4, p. 343-348, Apr. 2004.

DI PAOLA, R.; MAZZON, E.; MUIA, C.; CRISAFULLI, C.; TERRANA, D.; GRECO, S.; BRITTI, D.; SANTORI, D.; OTERI, G.; CORDASCO, G.; CUZZOCREA, S. Effects of etanercept, a tumor necrosis factor- α antagonist, in an experimental model of periodontitis in rats. **Br. J. Pharmacol.**, v. 150, n. 3, p. 286–297, Feb. 2007.

DOLIC, M.; BAILER, J.; STAEHLE, H. J.; EICKHOLZ, P. Psychosocial factors as risk indicators of periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 11, p. 1134-1140, Nov. 2005.

DRAPER, H.H.; HADELY, M: Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. **Methods Enzymol.**, v.186, p. 421–431,1990.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, v. 82, n. 1, p. 47-95, Jan. 2002.

DUMITRESCU, A. L. Psychological perspectives on the pathogenesis of periodontal disease. **Rom. J. Intern Med.**, v. 44, n. 3, p. 241-260, 2006.

DUMITRESCU, A. L.; EL-ALEEM, A .S.; MORALES-AZA, B.; DONALDSON, L. F. A model of periodontitis in the rat: effect os lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 8, p. 596-603, Aug. 2004.

DUNN, A. L.; TRIVEDI, M. H.; KAMPERT, J. B.; CLARK, C. G.; CHAMBLISS, H. O. Exercise treatment for depression: efficacy and dose response. **Am. J. Prev. Med.**, v. 1, n. 28, p.1-8, 2005.

ELENKOV, I. J.; IEZZONI, D. G.; DALY, A.; HARRIS, A. G.; CHROUSOS, G. P. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. **Neuroimmunomodulation**, v. 12, n. 5, p. 255-269, 2005.

ELTER, J. R.; WHITE, B. A.; GAYNES, B. N.; BREIVIK, T.; GUNDERSEN, Y.; MYHRER, T.; FONNUM, F.; OSMUNDSSEN, H.; MURISON, R.; GJERMO, P.; Von HÖRSTEN, S.; OPSTAD, P. K.. Relationship of clinic depression to periodontal treatment outcome. **J. Periodontol.**, v. 73, n. 4, p. 441-449, 2002.

EREN, I.; NAZIROĞLU, M.; DEMIRDAŞ, A.; CELIK, O.; UĞUZ, A. C.; ALTUNBAŞAK, A.; OZMEN, I.; UZ, E. Venlafaxine modulates depression-induced oxidative stress in brain and medulla of rat. **Neurochem. Res.**, v. 32, n. 3, p. 497-505, Mar. 2007.

FEIGHNER, J. P. The role of venlafaxine in rational antidepressant therapy. **J. Clin. Psychiatry**, v. 55, suppl. A, p. 62-100, Sept. 1994.

FEIGHNER, J. P.; ENTSUAH, A. R.; McPHERSON, M. K. Efficacy of once-daily venlafaxine extended release (XR) for symptoms of anxiety in depressed outpatients. **J. Affect. Disord.**, v. 47, n. 1/3, p. 55-62, Jan. 1998.

FERES, M.; FIGUEIREDO, L. C. Da infecção focal à medicina periodontal. **Rev. Periodontia**, v. 17, n. 2, p. 14-20, jun. 2007.

FERNANDES, M. I.; GAIO, E. J.; OPPERMAN, R. V.; RADOS, P. V.; RÖSING, C. K. Comparison of histometric and morphometric analyses of bone height in ligature-induced periodontitis in rats. **Braz. Oral Res.**, v. 21, n. 3, p. 216-221, 2007.

FIORELLINI, J. P.; KIM, D. M.; ISHIKAWA, S. O. As estruturas de suporte dos dentes. *In*: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; KLOKKEVOLD, P. R.; CARRANZA, F.A. **Periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. cap. 5.

FRANCO, H. L.; EGREJA, L. S. G.; TORMENA JÚNIOR, C. E.; MORAES, R. G. B. Doenças periodontais agudas. *In*: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia: teoria e prática**. 1.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007. cap. 21, p. 311-322.

GALVÃO, M. P.; CHAPPER, A.; RÖSING, C. K.; FERREIRA, M. B. C.; SOUZA, M. A. L. Considerações metodológicas sobre estudos descritivos de doença periodontal induzida em ratos. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 17, n. 1, p. 56-62, 2003.

GALVÃO, M. P.; RÖSING, C. K.; FERREIRA, M. B. C.; SOUZA, M. A. L. Efeitos da doença periodontal induzida por ligadura na prenhez de ratas Wistar. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 17, n. 1, p. 51-55, 2003.

GASPIRC, B.; MASERA, A.; SKALERIC, U. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in localized juvenile periodontitis patients. **Connect Tissue Res.**, v. 43, n. 2/3, p. 413-418, 2002.

GENCO, R. J. Current view of risk factors for periodontal diseases. **J. Periodontol.**, v. 67, n. 10, suppl., p.1041-1049, Oct. 1996.

GENCO, R. J. Host responses in periodontal diseases: current concepts. **J. Periodontol.**, v. 63, n. 4, suppl., p.338-355, Apr. 1992.

GENCO, R. J.; HO, A. W.; DUNFORD, R. G.; TEDESCO, L. A relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 70, n. 7, p. 711-723, July 1999.

GENCO, R. J.; HO, A. W.; KOPMAN, J.; GROSSI, S. G.; DUNFORD, R. G.; TEDESCO, L. A. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. **Ann. Periodontol.**, v. 3, n. 1, p.288-302, July 1998.

GENCO, R. J.; ROSE, L. E.; MEALEY, B. L.; COHEN, W. D. Fatores de risco na doença periodontal. *In*: MEALEY, R.; COHEN, G. **Medicina periodontal**. São Paulo: Santos, 2002, p.11-33.

GIANNOPOULOU, C.; KRAUSE, K. H.; MÜLLER, F. The NADPH oxidase NOX2 plays a role in periodontal pathologies. **Semin. Immunopathol.**, v. 30, n. 3, p. 273-278, July 2008.

GILGUN-SHERKI, Y.; ROSENBAUM, Z.; MELAMED, E.; OFFEN, D. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. **Pharmacol. Rev.**, v. 54, n. 2, p. 271-284, June 2002.

GOLUB, L. M.; PAYNE, J. B.; REINHAR, R. A.; NIEMAN, G. Can Systemic Diseases Coincide (Not Just Exacerbate) Periodontitis? A Hypothetical “Two-hit” Model. **J. Dent. Res.**, v. 85, n. 2, p. 102-105, 2006.

GOHIL, K.; SCHOCK, B. C.; CHAKRABORTY, A. A.; TERASAWA, Y.; RABER, J.; FARESE, R. V.; PACKER, L.; CROSS, C. E.; TRABER, M. G. Gene expression profile of oxidant stress and neurodegeneration in transgenic mice deficient in alpha-tocopherol transfer protein. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 35, n. 11, p. 1343-1354, Dec. 2003.

GRAEFF, F. G.; HETEM, L. A. B. Neurotransmissores e ansiedade. *In*: HETEM, L. A. B.; GRAEFF, F. G. **Ansiedade e transtornos de ansiedade**. Rio de Janeiro: Científica Nacional, 1997. cap.7, p.173-195.

GRAVES, D. T.; COCHRAN, D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 3, p. 391-401, Mar. 2003.

GRAVES, D. T.; AL-MASHAT, H.; LIU, R. Evidence that diabetes mellitus aggravates periodontal diseases and modifies the response to an oral pathogen in animal models. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 25, n. 7, suppl. 1, p. 38-45, July 2004.

GÜLTEKIN, H.; AHMEDOV, V. The roles of the opioidergic system and nitric oxide in the analgesic of venlafaxine. **Yakugaku Zasshi**, v. 126, n. 2, p.117-121, Feb. 2005.

HAFFAJEE, A. D.; BOGREN, A.; HASTURK, H.; FERES, M.; LOPES, N. J.; SOCRANSKY, S. S. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 11, p. 996-1002, 2004.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? **Lancet**, v. 344, n. 8924, p.721-724, Sept. 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Clarendon Press, p. 543, 1989.

HANDLEY, S. L.; McBLANE, J. W. 5HT drugs in animal models of anxiety. **Psychopharmacology**, v. 112, n. 1, p. 13-20, 1993.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha 2-adrenoceptor agonists and antagonist in a maze-exploration model of fear-motivated behavior. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 327, n. 1, p. 1-5, Aug. 1984.

HANEY, E. M.; WARDEN, S. J.; BLIZIOTES, M. M. Effects of selective serotonin reuptake inhibitor on bone health in adults: time for recommendations about screening, prevention and management? **Bone**, v. 46, n. 1, p. 13-17, Aug. 2009.

HÉLIO, Z. J. Modelos animais de ansiedade. *In*: HETEM, L. A. B.; GRAEFF, F. G. **Ansiedade e transtorno de ansiedade**. Rio de Janeiro: Científica Nacional, 1997. cap. 4, p. 85-120.

HELUY, S. L. C.; NAIDU, T. G. Obesidade e doença periodontal: uma análise dos possíveis mecanismos de patogênese. **Rev. Periodontia**, v. 15, n. 1, p. 23-27, mar. 2005.

HERNANDEZ, P. L. R.; TELLO, L. T.; HERNANDEZ, T. F. J.; ROSETTE, M. R. Enfermedad periodontal: prevalencia y algunos factores asociados em escolares de una región mexicana. **Rev. ADM**, v. 57, n. 6, p. 222-230, 2000.

HOLANDA PINTO, S. A.; PINTO, L. M. S.; CUNHA, G. M. A.; CHAVES, M. H.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Anti-inflammatory effect of α , β -Amyrin, a pentacyclic triterpene from *Protium heptaphyllum* in rat model of acute periodontitis. **Inflammopharmacology**, v. 16, n. 1, p. 48-52, Feb. 2008.

HOLLISTER, L. E. Agentes antidepressivos. *In*: KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1994. cap. 29, p. 309-314.

HONG, C. Y.; LIN, S. K.; KOK, S. H.; CHENG, S. J.; LEE, M. S.; WANG, T. M.; CHEN, C. S.; LIN, L. D.; WANG, J. S. The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 33, n. 3, p. 162-169, Mar. 2004.

HORI, T.; KATAFUCHI, T.; TAKE, S.; SHIMIZU, N.; NIJIMA, A. The autonomic nervous system as a communication channel between the brain and the immune system. **Neuroimmunodulation**, v. 2, n. 4, p.203-215, 1995.

HSU, S.M.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in Immunoperoxidase Techniques: A comparasion between ABC and unlabeled antiobody (PAP) procedures. **J. Histochem. Cytochem.**, v.29, n. 4, p.577-580, Apr. 1981.

HUGHES, R. N.; COLLINS, M. A. Enhanced habituation and decreased anxiety by environmental enrichment and possible attenuation of these effects by chronic α -tocopherol (vitamin E) in aging male and female rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 94, n. 4, p. 534-542, Feb. 2010.

HUKKANEN, M.; HUGHES, F. J.; BUTTERY, L. D.; GROSS, S. S.; EVANS, T. J.; SEDDON, S.; RIVEROS-MORENO, V.; MACINTYRE, I.; POLAK, J. M. Cytokine-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by mouse, rat, and human osteoblast-like cells and its functional role in osteoblast metabolic activity. **Endocrinology**, v. 136, n. 12, p. 5445-5453, Dec. 1995.

IBOR, J. J.; CARRASCO, J. L.; PRIETO, R.; GARCIA-CALVO, C. Effectiveness and safety of venlafaxine extended release in elderly depressed patients. **Arch. Gerontol. Geriatr.**, v. 46, n. 3, p. 317-326, May/June. 2008.

JARNBRING, F.; SOMOGYI, E.; DALTON, J.; GUSTAFSSON, A.; KLINGE, B. Quantitative assessment of apoptotic and proliferative gingival oral keratinocytes in oral and sulcular epithelium in patients with gingivitis and periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, p.1065-1071, Dec. 2002.

JORDAN, H. V.; KEYES, P. H.; BELLACK, S. Periodontal lesions in hamsters and gnotobiotic rats infected with actinomyces of human origin. **J. Periodontal Res.**, v. 7, n. 1, p. 21-28, 1972.

JUDD, L. L. Mood disorders in the general population represent an important and worlwide public health problem. **Int. Clin. Psychopharmacol.**, v. 10, supl. 4, p. 5-10, Dec. 1995.

JUSTO, L. P.; CALIL, H. M. Depressão - o mesmo acometimento para homens e mulheres? **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 33, n. 2, p. 74-79, 2006.

KAPPUS, H.; DIPLOCK, A. T. Tolerance and safety of vitamin E: a toxicological position report. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 13, n. 1, p. 55-74, 1992.

KAY, M. M. B.; BOSMAN, G. J. C. G. M.; SHAPIRO, S. S.; BENDICH, A.; BASSEL, P. S. Oxidation as a possible mechanism of cellular aging: Vitamin E deficiency causes premature aging and IgG binding to erythrocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.83, p.2463-2467, 1986.

KELLER, M.; TRIVEDI, M.; THASE, A.; SHELTON, R.; KORNSTEIN, S.; NEMEROFF, C.; FRIEDMAN, E.; GELENBERG, A., KOCSIS, J.; DUNNER, D. et al. The prevention of recurrent episodes of depression with venlafaxine for two years (prevent) study: outcomes from the Acute and Continuation Phases. **Biol. Psychiatr.**, v. 62, n. 12, p. 1371-1379, Sept. 2007.

KOLOSOVA, N. G.; TROFIMOVA, N. A.; FURSOVA, A. Z. H. Opposite effects of antioxidants on anxiety in Wistar and OXYS rats. **Bull. Exp. Biol. Med.**, v. 141, p. 734-737, 2006.

KIBAYASHI, M.; TANAKA, M.; NISHIDA, N.; KUBONIWA, M.; KATAOKA, K.; NAGATA, H.; NAKAYAMA, K.; MORIMOTO, K.; SHIZUKUISHI, S. Longitudinal study of the association between smoking as a periodontitis risk and salivary biomarkers related to periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 78, n. 5, p. 859-867, May 2007.

KINANE, D. F. Causation and pathogenesis of periodontal disease. **Periodontol. 2000**, v. 25, p. 8-20, 2001.

KINANE, D. F.; BARTOLD, P. M. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. **Periodontol. 2000**, v. 43, p. 278-293, 2007.

KINANE, D. F.; BERGLUNDH, T.; LINDHE, J. Interações entre parasita e hospedeiro na doença periodontal. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005. cap. 5, p. 148-175.

KINANE, D. F.; DEMUTH, D. R.; GORR, S.U.; HAJISHENGALLIS G. N.; MARTIN, M. H. Human variability in innate immunity. **Periodontol. 2000**, v. 45, p. 14-34, 2007.

KINANE, D. F.; LINDHE, J. Periodontite crônica. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005. cap. 8, p. 205-211.

KLAGES, U.; WEBER, A. G.; WEHRBEIN, H. Approximal plaques and gingival sulcus bleeding in routine dental care patients: relations to life stress, somatization and depression. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 6, p. 575-582, June 2005.

KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal diseases in rats: A review article. **J. Periodontol.**, v. 62, n. 1, p. 59-73, Jan. 1991.

KLOKKEVOLD, P. R.; MEALEY, B. L. Influência das doenças sistêmicas e do estresse sobre o periodonto. *In*: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; KLOKKEVOLD, P. R., CARRANZA, F.A. **Periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. cap. 17, p. 284-311.

KUBERA, M.; KENIS, G.; BOSMANS, E.; KAJTA, M.; BASTA-KAIM, A.; SCHARPE, S.; BUDZISZEWSKA, B.; MAES, M. Stimulatory effect of antidepressants on the production of IL-6. **Int. Immunopharmacol.**, v. 4, n. 2, p. 185-192, Feb. 2004.

KUHR, A.; POPA-WAGNER, A.; SCHMOLL, H.; SCHWAHN, C.; KOCHER, T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. **J. Periodontal Res.**, v. 39, n. 2, p.101-106, Apr. 2004.

KUMAR, A.; GARG, R. A role of nitric oxide mechanism involved in the protective effects of venlafaxine in sleep deprivation. **Behav. Brain Res.**, v. 194, n. 2, p. 169–173, Dec. 2008.

KUSS, F. **Agentes oxidantes e antioxidantes**. Porto Alegre: UFRGS, 2005. Disponível em:<http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/ag_oxid_antioxid.pdf> . Acesso em: 5 jun. 2009.

LECRUBIER, Y.; BOURIN, M.; MOON, C. A. A.; SCHIFANO, F.; BLANCHARD, C.; DANJOU, P.; HACKETT, D. Efficacy of venlafaxine in depressive illness in general practice. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 96, n. 6, p. 485-493, June 1997.

LEITÃO, R. F. C.; RIBEIRO, R. A.; CHAVES, H. V.; ROCHA, F. A. C.; LIMA, V.; BRITO, G. A. C. Nitric oxide synthase inhibition prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 76, n. 6, p. 956-963, June 2005.

LEITÃO, R. F. C.; ROCHA, F. A. C.; de LIMA, V.; RIBEIRO, R. A.; CHAVES, H. V.; BRITO, G. A. C. Locally applied isosorbide decreases bone resorption in experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 75, n. 9, p. 1225-1230, Sept. 2004.

LEMKE, M. R. Antidepressant effects of dopamine agonists: experimental and clinical findings. **Nervenarzt**, v. 78, n.1, p. 31-38, Jan. 2007.

LIMA, M. S.; LIMA, A. R.; MARI, J. J. Epidemiologia dos transtornos de ansiedade. *In*: HETEM, L.A.; GRAEFF, F.G. **Ansiedade e transtorno de ansiedade**. Rio de Janeiro: Científica Nacional, 1997. cap. 8, p. 199-224.

LIMA, V.; BEZERRA, M. M.; de MENEZES ALENCAR, V. B.; VIDAL, F. D.; da ROCHA, F. A.; de CASTRO BRITO, G. A.; de ALBUQUERQUE RIBEIRO, R. Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. **Eur. J. Oral Sci**, v. 108, n. 2, p. 123-129, Apr. 2000.

LIMA, V.; VIDAL, F. D. P.; da ROCHA, F. A.; de CASTRO BRITO, G. A.; de ALBUQUERQUE RIBEIRO, R. Effects of TNF- α inhibitors pentoxifylline and thalidomide on alveolar bone loss in short-term experimental periodontal disease in rats. **J. Periodontol.**, v. 75, n.1, p. 156-162, 2004.

LLAVANERAS, A.; GOLUB, L. M.; RIFKIN, B. R.; HEIKKILA, P.; SORSA, T.; TERONEN, O.; SALO, T.; LIU, Y.; RYAN, M. E.; RAMAMURTHY, N. S. CMT-8/clodronate combination therapy synergistically inhibits alveolar bone loss in LPS - induced periodontitis. **Ann. N Y Acad. Sci.**, v. 878, p. 671-674, June 1999.

LÖE, H.; ANERUD, A. BOYSEN, H.; MORRISON, E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan labores 14 to 16 years of age. **J. Clin. Periodontol.**, v. 13, p. 431-440, 1986.

LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, v. 36, n. 3, p. 177-187, 1965.

LOHINAI, Z.; BENEDEK, P.; FEHÉR, E.; GYORFI, A.; ROSIVALL, L.; FAZEKAS, A. et al. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 123, n. 3, p. 353-360, Feb. 1998.

LÓPEZ, R.; BAEUM, V. G. Differences in tooth loss among Chilean adolescents socio-economic and behavioral correlates. **Acta Odontol. Scand.**, v. 64, n. 3, p. 169-176, 2006.

MANJI, H. K.; DREVETS, W. C.; CHARNEY, D. S. The cellular neurobiology of depression. **Nature Med.**, v. 7, p. 541-547, 2001.

MARSH, P. D. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, suppl. 6, p. 7-15, 2005.

MARTIN, A.; YODIM, K.; SZPRENGIEL, A.; SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, J. Roles of vitamins E and C on neurodegenerative diseases and cognitive performance. **Nutr. Rev.**, v. 60, p. 308-34, 2002.

MARTINS, M. D.; MARTINS, M. A. T. Etiopatogênese da doença periodontal. *In*: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B. **Fundamentos da periodontia: teoria e prática**. 1. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007. cap. 3, p.37-52.

MARUCHA, P. T.; KIECOLT-GLASER, J. K.; FAVAGEHI, M. Mucosal wound healing is impaired by examination stress. **Psychosom. Med.**, v. 60, n. 3, p. 362-365, May/June. 1998.

MATTOS, P. Impacto social e econômico da depressão. *In*: MORENO, D. H.; BERNIK, M.; MATTOS, P.; CORDÁS, T. A. **Recuperação em depressão**. São Paulo: Livre, 2003. cap. 3, p. 29-40.

McKINNEY, W. T. Animal models of depression. **Psychiatr. Dev.**, v. 2, n. 2, p. 77-96, 1984.

MENEZES, A. M.; ROCHA, F. A.; CHAVES, H. V.; CARVALHO, C. B.; RIBEIRO, R. A.; BRITO, G. A. Effect of sodium alendronate on alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol.**, v. 76, n. 11, p. 1901-1909, Nov. 2005.

MORENO, D. H. Diagnóstico e quadro da depressão. *In*: MORENO, D. H.; BERNIK, M.; MATTOS, P.; CORDÁS, T. A. **Recuperação em depressão**. São Paulo: Livre, 2003. cap. 2, p. 13-28.

MOSELEY, R.; WADDINGTON, R. J.; EMBERY, G.; REES, S. G. The modification of alveolar bone proteoglycans by reactive oxygen species in vitro. **Connect. Tissue Res.**, v.37, n. 1/2, p.13-28, 1998.

MOSS, M.; BECK, J.; KAPLAN, B.; OFFENBACHER, S.; WEITRAUB, J. A.; KOCH, G. G.; GENCO, R. J.; MACHTEI, E. E.; TEDESCO, L. A. Exploratory case-control analysis of psychosocial factors and adult periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 67, n. 10, suppl., p. 1060-1069, Oct. 1996.

NESTLER, E. J.; BARROT, M.; DILEONE, R. J.; EISCH, A. J.; GOLD, S. J.; MONTEGGIA, L. M. Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34 , n. 1, p. 13-25, Mar. 2002.

NIERENBERG, A. A.; FEIGHNER, J. P.; RUDOLPH, R.; COLE, J. O.; SULLIVAN, J. Venlafaxina for treatment-resistant unipolar depression. **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 14, n. 6, p. 419-423, Dec. 1994.

NISS, A. M.; DICKHUTH, H. H.; NORTHOFF, H.; FEHEENBACH, E. Free radicals and oxidative stress- imunological aspects. **Exerc. Immunol. Rev.**, v. 5, p. 22-56, 1999.

NISHIDA, A.; HISAOKA, K.; ZENSHO, H.; UCHITOMI, Y.; MORINOBU, S.; YAMAWAKI, S. Antidepressant drugs and cytokines in mood disorders. **Int. Immunopharmacol.**, v. 2, n. 12, p. 1619-1626, Nov. 2002.

NOCITI, F. H.; NOGUEIRA-FILHO, G. R.; PRIMO, M. T.; MACHADO, M. A. N.; TRAMONTINA, V. A.; SALLUM, E. The influence of nicotine on the bone loss rate in ligature-induced periodontitis. A histometric study in rats. **J. Periodontol.**, v. 71, n. 9, p.1460-1464, Sept. 2000.

NOGUEIRA-FILHO, G. R.; FRÓES NETO, E. B.; CASATI, M. Z.; REIS, S. R.; TUNES, R. S.; TUNES, U. R.; SALLUM, E. A.; NOCITI, F. H.; SALLUM, A. W. Nicotine effects on alveolar bone changes induced by occlusal trauma: a histometric in rats. **J. Periodontol.**, v. 75, n. 3, p. 348-352, Mar. 2004.

OFFENBACHER, S.; KATZ, V.; FERTIK, G.; COLLINS, J.; BOYD, D.; MAYNOR, G.; McKAIG, R.; BECK, J. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. **J. Periodontol.**, v. 67, n. 10, p. 1103-1113, Oct. 1996.

OHNISHI, T.; BANDOW, K.; KAKIMOTO, K.; MACHIGASHIRA, M.; MATSUYAMA, T.; MATSUGUCHI, T. Oxidative stress causes alveolar bone loss in metabolic syndrome model mice with type 2 diabetes. **J. Periodontal Res.**, v. 44, n.1, p. 43-51, Feb. 2009.

OPPERMANN, R. V.; SUSIN, C.; CORTELLI, S. C.; RÖSING, C.K.; ARAÚJO, M. W. B.; COSTA, O. F.; CORRAINI, P. Epidemiologia das doenças periodontais. **Rev. Periodontia.**, v. 15, n. 4, p. 63-76, dez. 2005.

OROZCO, A.; GEMMELL, E.; BICKEL, M.; SEYMOUR, G. J. Interleukin-1beta, Interleukin-12 and Interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 21, n. 4, p. 256-260, 2007.

ORTIZ RUGELES, A. Condiciones de vida y de salud bucal del escolarizado y su familia: municipio Caroni, Estado Bolivar, 1992. **Acta Odontol. Venez.**, v. 38, n. 1, p. 18-36, 2000.

PAGE, R. C. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of paradigm. **Ann. Periodontol.**, v. 3, n. 1, p. 108-120, July 1998.

PAGE, R. C.; BECK, J. D. Risk assessment for periodontal diseases. **Int. Dental J.**, v. 47, n. 2, p. 61-87, Apr. 1997.

PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. **Periodontitis in man and other animais**: a comparative review. Basel: Karger, 1982.

PANJMURTHY, K.; MANOHARAN, S.; RAMACHADRAN, C. R. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. **Cell. Mol. Biol. Lett** , v. 10, n. 2, p. 255-264, 2005.

PAPAPANOU, P. N.; LINDHE, J. Epidemiologia das doenças periodontais. *In*: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005. cap. 2, p. 49 – 80.

PARRISH, J. H.; DeMARCO, T. J.; BISSADA, N. F. Vitamina E and periodontitis in the rat. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 44, n. 2, p. 210-217, Aug. 1977.

PAVLOV, V. A.; TRACEY, K. J. Neural regulators of innate immune responses and inflammation. **Cell Mol. Life Sci.**, v. 61, n. 18, p. 2322-2331, Sept. 2004.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, Aug. 1985.

PERES, M. A.; ANTUNES, J. L.; BOING, A. F.; PERES, K. G.; BASTOS, J. L. Skin colour is associated with periodontal diseases in Brazilian adults: a population-based oral health survey. **J. Clin. Periodontol.**, v. 34, n. 3, p. 196-201, Mar. 2007.

PERSSON, G. R.; PERSSON, R. E.; MacCENTEE, C. I.; WYATT, C. C.; HOLLENDER, L. G.; KIYAK, H. A. Periodontitis and perceived risk for periodontitis in elders with evidence of depression. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 8, p. 691-696, Aug. 2003.

PERUZO, D. C.; NOGUEIRA FILHO, G. R.; NOCITI, F. H. J.; CASATI, M. Z.; SALLUM, E. A. Marcadores, indicadores e fatores de risco da doença periodontal. **Rev. Periodontia.**, v. 14, n. 1, p. 5-12, mar. 2004.

PINDBORG, J. J. Influence of service in armed forces on incidence of gingivitis. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 42, n. 5, p. 517-522, 1951.

PORSOLT, R. D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JALFRE, M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 47, n. 4, p. 379-391, Feb. 1978.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. Fármacos usados em distúrbios afetivos. In: _____. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 38, p. 610-626.

RETANA-UGALDE, R.; CASANUEVA, E.; ALTAMIRANO-LOZANO, M.; GONZÁLEZ-TORRES, C.; MENDOZA-NÚÑEZ, V. M. High dosage of ascorbic acid and alpha-tocopherol is not useful for diminishing oxidative stress and DNA damage in healthy elderly adults. **Ann. Nutr. Metab.**, v. 52, n. 2, p. 167-173, Apr. 2008.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELÚZIO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Biosci. J.**, v. 21, n. 3, p. 133-149, set./dez. 2005.

RIVALDO, E. G.; PADILHA, D. P.; HUGO, F. N. Alveolar bone loss and aging: a model for the study in mice. **J. Periodontol.**, v. 76, n. 11, p. 1966-1971, Nov. 2005.

ROBINSON, M.; HART, D.; PIGOTT, G. H. The effects of diet on the incidence of periodontitis in rats. **Lab. Anim.**, v. 25, n. 3, p. 247-253, July 1991.

ROCKVILLE, M. D. Venlafaxine application summary. **Food Drug. Adm.**, p.1-23, 1994.

ROVIN, S; COSTICH, E.R; GORDON, H.A. The influence of bacteria and irritation in the periodontal disease in germ free and conventional rats. **J. Periodontal Res.**, v.1, p.193-204, 1966.

SALETU, A.; PIRKER-FRÜHAUF, H.; SALETU, F.; LINZMAYER, L.; ANDERER, P.; MATEJKA, M. Controlled clinical and psychometric studies on the relation between periodontitis and depressive mood. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 12, p. 1219-1225, Dec. 2005.

SALLAY, K.; SANAVI, F.; RING, I.; PHAM, P.; BEHLING, U.H.; NOWOTNY, A. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **J. Periodontal. Res.**, v. 17, n. 3, p. 263-274, 1982.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, July 2005.

SCANNAPIECO, F. A. Periodontal inflammation: from gingivitis to systemic disease? **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 25, n. 7, suppl. 1, p.16-25, July 2004.

SCANNAPIECO, F. A. Position paper of the American Academy of Periodontology: Periodontal disease as a potential risk for systemic diseases. **J. Periodontol.**, v. 69, n. 7, p. 841-850, July 1998.

SCANNAPIECO, F. A.; BUSH, R. B.; PAJU, S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. **Ann. Periodontol.**, v. 8, n. 1, p. 38-53, Dec. 2003.

SCANNAPIECO, F. A.; HO, A. W. Potential associations between chronic respiratory disease and periodontal disease: analysis of National Health and Nutrition Examination Survey III. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 1, p. 50-56, Jan. 2001.

SCANNAPIECO, F. A.; MYLOTTE, J. M. Relationships between periodontal disease and bacterial pneumonia. **J. Periodontol.**, v. 67, n. 10, p. 1114-1121, Oct. 1996.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am. J. Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509-522, Nov. 1965.

SCHNEIDER, H. G.; POSE, G. Influence of tocopherol on the periodontium of molars in rats fed a diet lacking in vitamin E. **Arch. Oral Biol.**, v. 14, n. 4, p. 431-433, Apr. 1969.

SCORZA, F. A.; GUERRA, A. B. G.; CAVALHEIRO, E. A.; CALI, H. M. Neurogênese e depressão: etiologia ou nova ilusão? **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 27, n. 3, p. 249-253, set. 2005.

SCULLEY, D. V.; LANGLEY-EVANS, S. C. Periodontal diseases is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. **Clin. Sci.**, v. 105, n. 2, p. 167-172, Aug. 2003.

SEMENOFF-SEGUNDO, A.; SEMENOFF, T. D. V.; BOSCO, A. F.; BIASOLI, E. R.; RIBEIRO, R.V.; ROCATTO, G. E. G. D.; BUZELLE, S. L.; CIRILO, D. M.; ROSA, S. L.G. Efeito do estresse crônico na progressão de periodontite induzida por ligadura em ratos. **Rev. Periodontia.**, v. 17, n. 3, p. 62-65, set. 2007.

SHEIKHI, M.; BOUHAFS, R. K.; HAMMARSTROM, K. J.; JARSTRAND, C. Lipid peroxidation caused by oxygen radicals from *Fusobacterium*-stimulated neutrophils as a possible model for the emergence of periodontitis. **Oral Dis.**, v.27, n. 1, p. 41-46, 2001.

SHIRAI, M.; KAWAI, Y.; YAMANISHI, R.; TERAQ, J. Approach to novel functional foods for stress control 5. Antioxidante activity profiles of antidepressant herbs and their active componentes. **J. Med. Invest.**, v. 52, supl., p. 249-251, Nov. 2005.

SHUID, A. N.; MEHAT, Z.; MOHAMED, N.; MUHAMMAD, N.; SOELAIMAN, I. N. Vitamin E exhibits bone anabolic actions in normal males rats. **J. Bone Miner. Metab.**, Sept. 2009. DOI: 10.1007/s00774-009-0122-2.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Microbiologia da doença periodontal. *In*: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005. cap. 4, p. 105-147.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D.; GOODSON, J. M.; LINDHE, J. New concepts of destructive periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, v. 11, n. 1, p. 21-32, Jan. 1984.

SOLIS, A. C. O.; LOTUFO, R. F. M.; PANNUTI, C. M.; BRUNHEIRO, E. C., MARQUES, A. H., LOTUFO-NETO, F. Association of periodontal disease to anxiety and depression symptoms, and psychosocial stress factors. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 8, p. 633-638, Aug. 2004.

STAHL, S. M. Novos antidepressivos e estabilizadores do humor. *In: _____*. **Psicofarmacologia: depressão e transtornos bipolares**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2003. cap. 3, p.107-159.

STAHL, S. M.; AHMED, S.; HAUDIQUET, V. Analysis of the rate of improvement of specific psychic and somatic symptoms of general anxiety disorder during long-term treatment with venlafaxine ER. **CNS Spectr.**, v. 12, n. 9, p. 703-711, Sept. 2007.

STIPANUK, M. H. **Biochemical and physiological aspects of human nutrition**. New York: W. B. Saunders Company, 2000.

SUSIN, C. Epidemiologia periodontal. *In: BRUNETTI, M. C.; FERNANDES, M. I.; MORAES, R. G. B.* **Fundamentos da periodontia: teoria e prática**. 1. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007. cap. 4, p. 54-66.

SUSIN, C.; HAAS, N.; OPPERMANN, R. V.; HAUGEJORDEN, O.; ALBANDAR, J. M. Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a representative urban Brazilian population. **J. Periodontol.**, v. 75, n. 10, p. 1377-1386, Oct. 2004.

SUSIN, C.; RÖSING, C. Effect of variable moderate chronic stress on ligature induced periodontal disease in Wistar rats. **Acta. Odontol. Scand.**, v. 61, n. 5, p.273-277, Oct. 2003.

SUSIN, C.; RÖSING, C. O rato como modelo para o estudo das repercussões do estresse nas doenças. **Rev. Periodontia**, v. 13, n. 6, p. 5-10, nov. 2002.

TENGERDY, R. P.; HEINZERLING, R. H.; BROWN, G. L.; MATHAIS, M. M. Enhancement of the humoral immune response by vitamin E. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.**, v. 44, p. 221-232, 1973.

TERRERI, M.; CORTELLI, S. C.; AQUINO, D. R. FRANCO, G. C. N.; CARVALHO FILHO, J.; SANTOS, J. G.; CORTELLI, J. R. O impacto do hábito de fumar sobre a condição clínica periodontal e a prevalência de patógenos periodontal. **Rev. Periodontia**, v. 95, n. 1, p. 76-83, mar. 2009.

TIANEPTINA. Disponível em:<<http://pt.wikipedia.org/wiki/Tianeptina>>. Acesso em: 2 out. 2009.

TIPTON, D. A.; FLYNN, J. C.; STEIN, S. H.; DABBOUS, M. K. H. Cyclooxygenase-2 inhibitors decrease interleukin-1beta-stimulated prostaglandin E2 and IL-6 production by human gingival fibroblasts. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 12, p. 1754-1763, Dec. 2003.

TONETTI, M. S.; MOMBELLI, A. Periodontite agressiva. *In*: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005. cap. 9, p. 212-238.

TRIANA, B. E. G.; BERNABEU, S. A.; FEBLES, S. C. El estrés oxidativo en los efectos sistêmicos de la enfermedad periodontal inflamatoria. **Rev. Cubana Invest. Biomed.**, v. 21, n. 3, p. 194-196, marzo 2002.

TÜTER, G.; KURTIS, B.; SERDAR, M. Interleukin-1 β and Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 7, p. 883-888, July 2001.

UZBAY, T. I. Tianeptine: potential influences on neuroplasticity and novel pharmacological effects. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 32, p. 915-924, 2008.

UZBEKOV, M. G. Antidepressant action of tianeptine is connected with acceleration of serotonin turnover in the synapse: a hypothesis. **Neuropsychopharmacol. Hung.**, v. 11, n. 2, p. 83-87, June 2009.

VADENAL, R.; JORGE, A. O. C.; SANTOS, S. S. F. Estresse e doença periodontal em pilotos da aviação do exército brasileiro. **Rev. Periodontia**, v. 14, n.3, p. 5-12, set. 2004.

VAN DYKE, T. E. The management of inflammation in periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 79, n. 8, suppl., p. 1601-1608, Aug. 2008

VANCINI, R. L.; LIRA, C. A. B.; ABOULAFIA, J.; NOUVAILHETAS, V. L. A. **Radical livre, estresse oxidativo e exercício**. São Paulo: Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício/ Escola Paulista de Medicina/UNIFESP, 2005.

VENLAFAXINA. Disponível em:<<http://hidratapharma.com.br>. Acesso em: 5 ago. 2008.

VETTORE, M. V.; LEÃO, A. T.; MONTEIRO da SILVA, A. M.; QUINTANILHA, R. S.; LAMARCA, G. A. The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 5, p. 394-402, May 2003.

VETTORE, M. V.; QUINTANILHA, R. S.; MONTEIRO da SILVA, A. M.; LAMARCA, G. A.; LEÃO, A. T. The influence of stress and anxiety on the response of non-surgical periodontal treatment. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 12, p. 1226-1235, Dec. 2005.

VOLLMAR, P.; NESSLER, S.; KALLURI, S. R; HARTUNG, H. P.; HEMMER, B. The antidepressant venlafaxine ameliorates murine experimental autoimmune encephalomyelitis

by suppression of pro-inflammatory cytokines. **Int J Neuropsychopharmacology.**, v.12, n. 2, p. 525-536, 2009.

VOLLMAR, P.; HAGHIKIA, A.; DERMIETZEL, R.; FAUSTMANN, P. M. Venlafaxine exhibits an anti-inflammatory effect in an inflammatory co-culture model. **Int. J. Neuropsychopharmacol.**, v. 11, n. 1, p. 111–117, Feb. 2008.

WADA, N.; MAEDA, H.; YOSHIMINE, Y.; ALCAMINE, A. Lipopolysaccharide stimulates expression of osteoprotegerin and receptor activator of NF-kappa B ligand in periodontal ligament fibroblasts through the induction of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha. **Bone**, v. 35, n. 3, p. 629-635, Sept. 2004.

WANG, Y. H.; WANG, W. Y.; CHANG, C. C.; LIOU, K. T.; SUNG, Y. J.; LIAO, J. F.; CHEN, C. F.; CHANG, S.; HOU, Y. C.; CHOU, Y. C.; SHEN, Y. C. Taxifolin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats through its anti-oxidative effect and modulation of NF-kappa B activation. **J. Biomed. Sci.**, v. 13, n. 1, p.127-141, Jan. 2006.

WARDEN, S. J.; HANEY, E. M. Skeletal effects of serotonin (5-hydroxytryptamine) transporter inhibition: evidence from in vitro and animal-based studies. **J. Musculoskelet. Neuronal Interact**, v. 8, p.121-132, 2008.

WESTBROEK, I.; VAN DER PLAS, A.; DE ROOIJ, K. E.; KLEIN-NULEND, J.; NIJWEIDE, P. J. Expression of serotonin receptors in bone. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 28961–28968, 2001.

YADAV, V. K.; RYU, J. H.; SUDA, N.; TANAKA, K. F.; GINGRICH, J. A.; SCHUTZ, G.; GLORIEUX, F. H.; CHIANG, C. Y.; ZAJAC, J. D.; INSOGNA, K. L.; MANN, J. J.; HEN, R.; DUCY, P.; KARSENTY, G. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. **Cell.**, v. 135, n.5, p. 825–837, 2008.

YOSHIDA, E.; WATANABE, T.; TAKATA, J.; YAMAZAKI, A.; KARUBE, Y.; KOBAYASHI, S. Topical application of a novel, hydrophilic gamma-tocopherol derivative reduces photo-inflammation in mice skin. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 44, n. 6, p. 1203-1208, Mar. 2008.

ZAFIR, A.; BANU, N. Antioxidant potential of fluoxetine in comparison to curcuma in restraint-stressed rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 572, n. 1, p. 23-31, Oct. 2007.