

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA – PERIODONTIA**

Tese:

Efeito da obesidade induzida pela dieta de cafeteria em conjunto com periodontite e tratamento periodontal sobre perfil metabólico e marcadores sistêmicos inflamatórios: estudo experimental em ratos

Karina Kimiko Yamashina Pereira

Porto Alegre

2019

Karina Kimiko Yamashina Pereira

Efeito da obesidade induzida pela dieta de cafeteria em conjunto com periodontite e tratamento periodontal sobre perfil metabólico e marcadores sistêmicos inflamatórios: estudo experimental em ratos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Nível Doutorado, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como pré-requisito final para a obtenção do título de Doutora em Clínica Odontológica com ênfase em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Alex Nogueira Haas

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Yamashina Pereira, Karina Kimiko

Efeito da obesidade induzida pela dieta de cafeteria em conjunto com periodontite e tratamento periodontal sobre perfil metabólico e marcadores sistêmicos inflamatórios: estudo experimental em ratos. / Karina Kimiko Yamashina Pereira. -- 2019.

61 f.

Orientador: Alex Nogueira Haas.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Obesidade. 2. Periodontite. 3. Tratamento Periodontal. 4. Ratos. I. Nogueira Haas, Alex, orient.
II. Título.

Karina Kimiko Yamashina Pereira

Efeito da obesidade induzida pela dieta de cafeteria em conjunto com periodontite e tratamento periodontal sobre perfil metabólico e marcadores sistêmicos inflamatórios: estudo experimental em ratos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Nível Doutorado, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como pré-requisito final para a obtenção do título de Doutora em Clínica Odontológica com ênfase em Periodontia.

Porto Alegre, 29 de maio de 2019.

Prof. Dr. Eduardo José Gaio

Profa. Dra. Daniela Martins Souza

Prof. Dr. João Paulo Steffens

Dados Curriculares

Karina Kimiko Yamashina Pereira

Nascimento: 29 de julho de 1982 – Canoas/RS

Filiação: Carlos Alberto Pereira
Yukiko Yamashina Pereira

2000-2005 Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará.

2005-2006 Especialização em Periodontia na Sociedade de Promoção Social do Fissurado Lábio Palatal – PROFIS – Bauru/SP.

2006-2007 Curso de Atualização em Periodontia na Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo – Bauru/SP.

2007-2008 Curso em Prática Profissionalizante em Periodontia na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto/SP.

2008-2010 Mestrado em Periodontia na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto/SP.

2011- Professora do Curso de Especialização em Periodontia do Curso de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – Porto Alegre/RS.

2013- Professora Assistente das disciplinas de Periodontia e Clínica Integrada do Curso de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – Porto Alegre/RS.

2015-2019 Doutorado em Clínica Odontológica, área de concentração em Periodontia na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre/RS.

Agradecimentos

Agradeço imensamente aos meus pais por todo incentivo, apoio, atenção e carinho ao longo de todos esses anos da minha formação acadêmica. Toda minha trajetória até aqui só foi possível graças ao esforço e dedicação de vocês.

Agradeço ao meu marido, Valdir Stiebe Jr, por sempre estar ao meu lado me apoiando com um sentimento de amor incondicional. Por abraçar mais esse desafio comigo e compreender o quanto isso é importante para mim.

Ao meu orientador, Alex Nogueira Haas, por me aceitar como orientada, por aceitar orientar um projeto com um modelo experimental diferente das suas linhas de pesquisa, por sempre apontar, de forma tão precisa e atenciosa, na direção para onde eu deveria seguir. Ter tido a oportunidade desta orientação e de conviver com este pesquisador de excelência foi, com certeza, um grande aprendizado e honra para mim.

Ao parceiro de pesquisa, Maximiliano Schunke Gomes, que desde o primeiro momento foi incansável para que eu pudesse desenvolver a parte experimental da pesquisa na PUC e para que tivéssemos sempre as melhores condições e equipes de trabalho disponíveis. Contar com a participação e colaboração deste grande amigo e pesquisador, enriqueceu de forma única o trabalho.

À amiga, Cyntia Mireya Jara Pintos, por toda participação e ajuda ao longo desses anos de trabalho na pesquisa. Juntas enfrentamos desafios, choramos e demos muitas risadas, descobrimos novos caminhos e, posso dizer, aprendemos muito.

Aos meus colegas da PUC, por todo apoio e amizade que fizeram com que eu pudesse desenvolver as atividades que envolviam o doutorado. Em especial, aos colegas Rafael Oliveira Ramos e Lauro Ayub, que sempre me incentivaram e me motivaram para que eu concluísse mais esta etapa de formação acadêmica.

Aos meus colegas da pós-graduação da UFRGS, por todo acolhimento e troca de experiências pessoais e profissionais que fizeram com que este doutorado fosse tão prazeroso. Em especial, aos queridos amigos Joseane Goergen, Douglas Romitti, Sílvia Zanella, Roberto Pimentel e Harry Rivera que participaram de forma única na minha vida nestes últimos quatro anos.

A minha parceira de vida acadêmica, minha amiga, minha comadre, Ingrid Sanada, por mais de doze anos de uma relação que começou por motivos profissionais, em busca de um

sonho em comum, e se tornou um vínculo familiar. Foi através do seu incentivo e amizade que pude chegar até aqui. Meus agradecimentos se estendem ao Yuri, ao Jefferson, à tia Lana por sempre me acolherem com muito amor.

Aos professores da Periodontia da UFRGS, que sempre estiveram à disposição para ajudar e compartilhar seus conhecimentos. Em especial, ao Juliano Cavagni, pela sua valiosa participação no delineamento do estudo, pelos esclarecimentos ao longo do período experimental, pela ajuda na escrita dos resultados e por todas as vezes que pode contribuir de forma excepcional com o trabalho e com meus conhecimentos acadêmicos.

Ao Cassiano Kuchenbecker Rösing, pela confiança depositada e oportunidade de ingresso no doutorado. Foi uma honra poder conviver com este exemplo de professor e pesquisador que entre tantos ensinamentos sempre ressaltou a importância e o significado de se ter um título de doutor no nosso país.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, em especial ao curso de Odontologia, na figura dos professores Alexandre Bahlis e Angélica Fritscher, pela oportunidade de aprimoramento profissional.

À Coordenação de Pós-graduação do Curso de Odontologia da PUC, na figura das professoras Ana Spohr e Maria Martha Campos, que permitiram que eu participasse do projeto de pesquisa que resultou na obtenção dos dados para o desenvolvimento da tese.

Ao querido professor Jarbas Rodrigues, por sempre nos atender e disponibilizar o laboratório para a realização dos experimentos.

A Géssica Antunes, técnica do laboratório, que participou de forma dedicada na análise das citocinas.

Aos funcionários do Centro de Modelos Biológicos Experimentais, por ajudarem na parte experimental de manipulação, condicionamento e cuidados com os animais no vivário.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade de estudar nesta instituição que sempre foi um sonho, e que agora torna-se uma realidade. Foi uma grande honra fazer parte do seu corpo discente e incluir no meu currículo uma Universidade que busca excelência e que contribui muito para produção científica do nosso país.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro à pesquisa.

Aos professores membros da banca, Eduardo Gaio, Daniela Martins de Souza e João Paulo Steffens, por aceitarem tão prontamente participar da defesa da minha tese.

A todos os brasileiros pagadores de impostos, por eu ter tido a oportunidade de estudar em três instituições de ensino superior, UFPA, USP e UFRGS. Foi uma grande evolução chegar até aqui e todo esse trabalho foi sempre valorizado. Espero poder contribuir de volta com o conhecimento obtido ao longo dos anos de forma direta e indireta na melhoria da qualidade de vida da população.

*“If we treat people as they are, we make them worse. If we treat people as they ought to be,
we help them become what they are capable of becoming”.*

Johann Wolfgang von Goethe

RESUMO

A elevação nos níveis séricos de mediadores inflamatórios vem sendo associada ao aumento no risco do desenvolvimento de diversas doenças crônicas não-transmissíveis. Tanto a obesidade quanto a periodontite compartilham uma natureza inflamatória crônica de baixa intensidade. As repercussões sistêmicas da periodontite, assim como o possível efeito da terapia periodontal nos níveis de mediadores inflamatórios sistêmicos em indivíduos obesos, ainda não são totalmente compreendidas. O objetivo deste estudo foi comparar o efeito da periodontite e do tratamento periodontal não cirúrgico nos níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, proteína C reativa (PCR), interleucina 1beta (IL-1- β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), interleucina 17 (IL-17) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em um modelo experimental em animal. Para o estudo foram utilizados 60 ratos Wistar randomizados em dois grandes grupos diferenciados pela dieta administrada. Dentro de cada grupo, os ratos foram divididos em subgrupos: sem periodontite (G1 e G4), com periodontite sem tratamento (G2 e G5) e com periodontite tratada (G3 e G6). A dieta de cafeteria foi utilizada para indução da obesidade no período inicial de 12 semanas (G4, G5 e G6). A indução da periodontite foi feita através de ligadura ao redor dos primeiros molares inferiores. Após 4 semanas, os grupos G2 e G5 foram eutanasiados e nos grupos G3 e G6 foi feita remoção da ligadura e raspagem subgingival. Os animais tratados foram eutanasiados após 4 semanas. Considerou-se a concentração sérica de PCR como desfecho primário e os demais marcadores foram considerados desfechos secundários. Diferenças significativas para o peso e índice de Lee foram observadas no grupo exposto a dieta de cafeteria indicando presença de obesidade neste grupo. Os resultados demonstraram que G5 apresentou níveis de PCR significativamente maiores que G4 e G2. Nos ratos expostos a dieta de cafeteria, as concentrações de IL-1 β e TNF- α mostraram-se significativamente mais elevadas em G6 do que nos grupos G4 e G5, respectivamente. Ratos da dieta padrão, G2 e G3, apresentaram maiores níveis de IL-17A do que G1. Não houve diferença significativa na concentração de IL-6 e IL-10 entre os grupos experimentais. Análise dos marcadores metabólicos mostrou que G6 e G5 apresentaram níveis de glicose mais elevados que seus respectivos grupos controles, G3 e G2. De forma semelhante, G6, G5 e G4 apresentaram níveis de triglicerídeos significativamente maiores do que seus respectivos grupos controles, G3, G2 e G1. Nos níveis séricos de colesterol total, G6 apresentou maiores valores quando comparados a G5. A partir dos resultados obtidos na presente tese, pode-se concluir que a periodontite associada a obesidade elevou os níveis séricos de PCR, mas que o tratamento da periodontite induzida não resultou em melhorias sistêmicas nos marcadores

inflamatórios e metabólicos avaliados, à exceção do colesterol total no grupo exposto a dieta de cafeteria.

Palavras-chave: Obesidade, periodontite, tratamento periodontal não-cirúrgico, ratos.

ABSTRACT

Elevation in serum levels of inflammatory mediators has been associated with an increased risk of development of several chronic noncommunicable diseases. Both obesity and periodontitis share a chronic inflammatory of low intensity nature. The systemic repercussions of periodontitis, as well as the possible effect of periodontal therapy on the levels of systemic inflammatory mediators in obese individuals still not fully understood. The aim of this study was to compare the effect of periodontitis and non-surgical periodontal treatment on serum levels of glucose, triglycerides, total cholesterol, C-reactive protein (CRP), interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), interleukin-17 (IL-17) and tumor necrosis factor alfa (TNF- α) in an experimental animal model. For the study, 60 Wistar rats were randomized into two large groups differentiated by the diet. Within each group, the rats were divided into subgroups: no periodontitis (G1 and G4), with untreated periodontitis (G2 and G5) and treated periodontitis (G3 and G6). The cafeteria diet was used to induce obesity in the 12 weeks initial period (G4, G5 and G6). Induction of periodontitis was done by ligature around the lower first molars. After 4 weeks, the G2 and G5 groups were euthanized and the G3 and G6 had the ligature removed and scaling and root planning. The treated animals were euthanized after 4 weeks. Serum CRP was considered a primary endpoint and the other markers were considered secondary. Significant differences for weight and Lee's index were observed in the group exposed to the cafeteria diet indicating the presence of obesity in this group. The results showed that G5 had significantly higher CRP levels than G4 and G2. Rats exposed to the cafeteria diet, IL-1 β and TNF- α were significantly higher in G6 than in the G4 and G5 groups, respectively. In the standard diet, G2 and G3, presented higher levels of IL-17A than G1. There was no significant difference in the levels of IL-6 and IL-10 between the experimental groups. Analysis of the metabolic markers showed that G6 and G5 had higher glucose levels than their respective control groups, G3 and G2. Similarly, G6, G5 and G4 had significantly higher triglyceride levels than their respective control groups, G3, G2 and G1. When compared to G5, G6 presented higher values of serum levels of total cholesterol. From the results obtained it can be concluded that obesity associated periodontitis raised serum CRP levels, but the treatment of induced periodontitis did not result in systemic improvements in the inflammatory and metabolic markers, except for total cholesterol in the group exposed to cafeteria diet.

Keywords: Obesity, periodontitis, nonsurgical periodontal treatment, rats.

Apresentação

A presente tese está inserida em um estudo maior envolvendo o Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e o Programa de Pós-Graduação em Endodontia do curso de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). O estudo intitula-se “Avaliação do impacto do tratamento da periodontite apical e da doença periodontal nos níveis séricos de mediadores inflamatórios em ratos obesos e não obesos”.

Equipe de trabalho:

Prof. Dr. Alex Nogueira Haas – Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Conservadora – Periodontia e Implantodontia – Faculdade de Odontologia - UFRGS.

Prof. Dr. Juliano Cavagni - Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Conservadora – Periodontia e Implantodontia – Faculdade de Odontologia - UFRGS.

Prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker Rösing - Professor Titular do Departamento de Odontologia Conservadora - Periodontia - Faculdade de Odontologia - UFRGS.

Prof. Dr. Maximiliano Schunke Gomes – Professor Adjunto das disciplinas de Endodontia e Clínica Integrada – Curso de Odontologia - Escola de Ciências da Saúde – PUCRS.

Me. Karina Kimiko Yamashina Pereira - Doutoranda em Clínica Odontológica, ênfase em Periodontia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - UFRGS.

Me. Cynthia Mireya Jara Pintos –Doutoranda em Endodontia pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia – PUCRS.

Lista de ilustrações:

Materiais e métodos

Figura 1: Fluxograma do estudo

Resultados

Figura 2: Mediana (valores máximo e mínimo) do peso dos ratos de acordo com a dieta e os grupos de indução e tratamento da periodontite

Lista de tabelas:

Materiais e métodos

Tabela 1: Dieta de cafeteria empregada.

Resultados

Tabela 2: Concentração de PCR ($\mu\text{g/L}$) de acordo com os grupos experimentais.

Tabela 3: Mediana (mínimo e máximo) dos níveis de citocinas (pg/mL) de acordo com os grupos experimentais.

Tabela 4: Mediana (mínimo e máximo) dos níveis de marcadores metabólicos (mg/dL) de acordo com os grupos experimentais.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA	1
1.1. OBESIDADE	1
1.2. PERIODONTITE	3
1.3. OBESIDADE E PERIODONTITE	5
1.4. INFLUÊNCIA DA TERAPIA PERIODONTAL SOBRE OBESIDADE	8
2. OBJETIVOS	12
2.1. OBJETIVOS GERAIS	12
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1. TAMANHO DA AMOSTRA	13
3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS	14
3.3. PESAGEM DOS ANIMAIS E CÁLCULO DO ÍNDICE DE LEE	15
3.4. RANDOMIZAÇÃO	15
3.5. INDUÇÃO DA PERIODONTITE	15
3.6. TRATAMENTO DA PERIODONTITE	16
3.7. EUTANÁSIA, COLETA DAS AMOSTRAS E PREPARAÇÃO DO SORO	16
3.8. DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA	17
3.9. DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL E TRIGLICERÍDEOS	17
3.10. DETERMINAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS	17
3.11. CONTROLE DE QUALIDADE	18
3.12. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	18
3.13. ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
4. RESULTADOS	20
5. DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	
ANEXOS	

1. REVISÃO DA LITERATURA:

1.1. OBESIDADE

A expectativa de vida da população mundial aumentou rapidamente desde o século XVIII, quando a média de vida era em torno dos 30 anos. No início do século XIX, a expectativa de vida começou a aumentar, sobretudo nos países industrializados. Em 1913, a população vivia em média 50 anos, enquanto que atualmente se aproxima dos 80 anos de idade (UK Office of National Statistics, 2016). Grande parte destes avanços se deve a melhorias nos campos das ciências e tecnologia que resultaram na redução e extinção de muitas doenças infectocontagiosas. Entretanto, apesar de tudo isso, a medicina continua a enfrentar desafios incomparáveis. Atualmente, o foco das pesquisas na área de saúde está na interação do corpo humano com o mundo ao nosso redor. Expectativa de vidas mais longas, juntamente com uma maior compreensão dos conceitos biológicos, ferramentas avançadas de diagnóstico e técnicas terapêuticas, trouxeram a possibilidade de estudar e compreender a saúde e a doença sob uma nova perspectiva.

Atualmente, as doenças crônicas apresentam um impacto global muito maior sobre os problemas de saúde do que as doenças transmissíveis (Petersen, 2004). As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como são denominadas na literatura, são a principal causa de morte no mundo, representando 71% de todas as mortes anuais, sendo um terço entre as faixas etárias consideradas prematuras (30 a 70 anos de idade). No Brasil, estima-se que a cada ano, aproximadamente 74% da população morre em decorrência de DCNTs. Entre os fatores de risco mais prevalentes estão a ausência de atividade físicas (47%), hipertensão arterial (23%), obesidade (22%) e tabagismo (14%) (Who, 2018).

A obesidade é um problema contemporâneo de saúde pública no mundo, cuja prevalência duplicou nos últimos trinta anos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2013, 42 milhões de crianças menores de 5 anos foram relatadas com sobrepeso ou com obesidade. Em 2014, mais de 1,9 bilhões de adultos foram considerados com sobrepeso, dos quais 600 milhões foram caracterizados como obesos (Who, 2016). Estimativa da população brasileira mostra que cerca de 52% encontra-se acima do peso, segundo dados do Ministério de Saúde (Ministério da Saúde, 2014).

Com sua crescente prevalência mundial, a obesidade e seus complexos mecanismos biológicos têm sido vastamente estudados. A maior compreensão de potenciais fatores modificadores envolvidos no seu desenvolvimento e/ou na sua progressão evidenciou a variabilidade interindividual, particularmente aqueles fatores ligados ao estilo de vida (Grover

e Joshi, 2014). Indivíduos com sobrepeso ou obesos frequentemente apresentam problemas adicionais de saúde, incluindo o risco aumentado de resistência à insulina, diabetes, dislipidemia, doença hepática gordurosa não alcoólica, aterosclerose, distúrbios degenerativos, doenças respiratórias e alguns tipos de câncer (Semenkovich, 2006).

A obesidade é definida como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que representa um risco à saúde (Who, 2008). Dados na literatura indicam que a obesidade está relacionada a um estado inflamatório crônico de baixa intensidade, o que contribui para o desenvolvimento de comorbidades, como doenças cardiovasculares, diabetes e, em especial, a síndrome metabólica (Hotamisligil, 2006). A literatura revela que a sua etiologia é multifatorial e pode estar relacionada a fatores genéticos, neuroendócrinos, a indução por drogas, estilo de vida sedentário e dieta alimentar (Bray, 2004). Entre os fatores de risco mais comuns para o ganho de peso estão a cessação do tabagismo, consumo de alimentos com alto teor calórico e altos níveis de açúcar e sódio, consumo excessivo de bebidas alcoólicas e sedentarismo (Who, 2016).

Em humanos, o diagnóstico da obesidade é determinado através do índice de massa corporal (IMC), o qual representa uma relação entre a massa corpórea (peso) dividido pela altura ao quadrado. Indivíduos considerados com sobrepeso e obesos apresentam valores de IMC igual ou superior a 25 e 30kg/m², respectivamente (Who, 2008). No entanto, quando analisado isoladamente, o IMC pode não ser um método confiável sobretudo na avaliação de indivíduos com mais ou menos massa corporal magra, subestimando os riscos para a saúde (Jimenez, 2013). Nesta perspectiva, a medição da circunferência abdominal é considerada um importante parâmetro de predição de depósitos de gordura visceral (Lean *et al.*, 1995). A OMS estabelece que a medida igual ou superior a 94 centímetros em homens e, 80 centímetros em mulheres, indica risco de doenças cardiovasculares (Who, 2008). Em grandes estudos epidemiológicos, o IMC permanece um parâmetro preditivo de risco à saúde, porém pode se tornar mais representativo quando associado a outras medidas antropométricas de distribuição de gordura (Whitlock *et al.*, 2009).

Na idade adulta, a obesidade caracteriza-se por um aumento no tamanho das células adiposas, enquanto que na infância, ocorre um aumento tanto no número, quanto no tamanho destas células. À medida que os adipócitos se tornam maiores, eles demonstram atividade alterada como o aumento do estresse oxidativo e alteração na secreção de citocinas com efeitos pró- e anti-inflamatórios (Tilg e Moschen, 2006; Varady *et al.*, 2009). A liberação dos marcadores inflamatórios conduz a sinalização e recrutamento de células como os macrófagos, os quais também contribuem para a perpetuação do estado inflamatório local e sistêmico,

através da produção de interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) entre outros agentes pró-inflamatórios (Tilg e Moschen, 2006; Maury e Brichard, 2010; Ouchi *et al.*, 2011). O acúmulo de macrófagos no tecido adiposo, organizados ao redor de adipócitos necrosados, constitui uma característica significativa da obesidade associada à inflamação crônica (Zheng *et al.*, 2016). Adicionalmente, pode ocorrer alteração no número de linfócitos na circulação periférica, induzindo a redução da resposta proliferativa das células e expressão desregulada de citocinas (Tanaka *et al.*, 1993; O'rourke *et al.*, 2005).

O tecido adiposo, assim, não é mais considerado um tecido inerte, mero armazenador de gordura e reservatório de energia. Com efeito, este atua como um órgão endócrino, com importantes funções imunoreguladoras, secretor de hormônios e outras substâncias bioativas conhecidas como adipocinas ou adipocitocinas (adiponectina, leptina, visfatina, grelina, resistina), que estão relacionadas a uma série de eventos fisiológicos (regulação do apetite, sensibilidade à insulina, angiogênese) mas também impulsionam o processo de inflamação (Havel, 2004; Kershaw e Flier, 2004). Além disso, a capacidade metabólica do tecido adiposo varia em função da sua localização, subcutânea ou visceral (intra-abdominal), podendo contribuir de forma mais ou menos intensa para a secreção de marcadores específicos (Dusserre *et al.*, 2000). A gordura visceral, por exemplo, tem se mostrado mais associada à síndrome metabólica do que a gordura subcutânea (Klein *et al.*, 2007). Enquanto a IL-6, TNF- α , resistina e visfatina encontram-se elevadas no tecido adiposo visceral, maiores níveis de leptina e adiponectina são observados no tecido adiposo subcutâneo (Kershaw e Flier, 2004).

Essas citocinas e adipocinas exercem forte influência sobre importantes processos metabólicos podendo afetar a sensibilidade à insulina, metabolismo da glicose, oxidação de ácidos graxos, assim como a secreção de proteína C reativa (PCR) pelo fígado (Maury e Brichard, 2010; Ouchi *et al.*, 2011). Estes eventos podem justificar a relação da obesidade com a patogênese de vários processos patológicos.

1.2. PERIODONTITE

As doenças periodontais são doenças inflamatórias que afetam os tecidos de proteção e sustentação dos dentes (Page e Kornman, 1997). As alterações nos tecidos periodontais podem apresentar diferentes formas de acordo com a sua etiopatogênese: gengivites, periodontites e outras condições que afetam o periodonto. De acordo com a última classificação das doenças e condições periodontais proposta em 2017, a periodontite é definida como uma doença inflamatória crônica multifatorial associada ao biofilme disbiótico e caracterizada pela

destruição progressiva do aparato de inserção dental (Papapanou *et al.*, 2018; Steffens e Marcantonio, 2018). A periodontite pode ainda ser classificada segundo seu grau de severidade, taxa de progressão e complexidade de tratamento (Tonetti *et al.*, 2018). Clinicamente, apresenta-se como uma inflamação do tecido gengival, perda óssea alveolar, perda de inserção, mobilidade dentária e, em último estágio, a perda dos dentes (Lang *et al.*, 1990; Page, 1998).

Embora considerada uma doença consideravelmente prevalente, estudos epidemiológicos sobre a periodontite, mostram dados bastante heterogêneos em relação a sua distribuição no mundo, indicando uma prevalência variando entre 20 a 50% da população (Dye *et al.*, 2007). A estimativa mais recente, baseada em dados atualizados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA, sugere que 47% da população adulta é acometida por alguma forma de periodontite (Eke *et al.*, 2012). Uma revisão sistemática publicada em 2014, a partir de dados entre 1990 e 2010, estimou a prevalência da periodontite severa em 11,2%, colocando-a como a 6ª condição mais prevalente no mundo (Kassebaum *et al.*, 2014). No Brasil, levantamento epidemiológico realizado revelou a ocorrência de periodontite em 9% da população (Peres *et al.*, 2007) Já outro estudo aplicado a uma população no sul do país, observou diferentes prevalências entre as formas moderada e severa da periodontite, variando entre 79% e 52%, respectivamente (Susin *et al.*, 2004).

Fortes evidências ressaltam a natureza infecciosa da periodontite, porém, apesar da presença de um biofilme periodontopatogênico ser essencial, a quebra da homeostase tecidual que gera a destruição do periodonto, envolve um hospedeiro susceptível (Page *et al.*, 1997). Inicialmente, a patogênese da periodontite foi atribuída a bactérias específicas e presentes em maiores proporções, como *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia*, que desencadeavam uma resposta inflamatória (Van Dyke e Kornman, 2008). Dados da literatura mais recente, no entanto, destacam o caráter polimicrobiano presente em quadros de saúde e doença dos tecidos periodontais. A partir da presença de patógenos específicos, incluindo *P. gingivalis*, ocorre um desafio ao equilíbrio microbiano, alterando a interação hospedeiro-microorganismo, responsável pela mediação do processo inflamatório associado à destruição do periodonto (Hajishengallis, 2015). Inicialmente, o processo inflamatório agudo local visa a eliminação de microrganismos patogênicos. Posteriormente, a ineficiência ou a falta de mecanismos resolutivos é considerada responsável pela transição para um estado inflamatório crônico (Van Dyke e Kornman, 2008; Medzhitov, 2010; Hajishengallis *et al.*, 2019). Nos tecidos afetados, a progressão da inflamação local contribui para o desfecho clínico da doença (Sexton *et al.*, 2011).

A presença das bactérias e suas endotoxinas levam ao recrutamento de células inflamatórias como macrófagos, neutrófilos e linfócitos (Ebersole *et al.*, 1993; Socransky e Haffajee, 2005). Após o reconhecimento bacteriano, uma cascata de sinalização celular acontece, com a liberação de várias citocinas pró-inflamatórias como interleucina 1 beta (IL-1 β), IL-6, TNF- α . Estes marcadores estão envolvidos em diversas atividades, tanto de reparação como de destruição tecidual (Page, 1991; Ebersole *et al.*, 1993; Garlet, 2010). Particularmente, altas concentrações de IL-1 β e TNF- α foram associadas à progressão da doença periodontal (Graves, 1999) e tiveram redução após o tratamento periodontal (Rosalem *et al.*, 2011). Estas citocinas são liberadas por macrófagos após infecção bacteriana ou lesão tecidual e, sequencialmente, estimulam a síntese e secreção de outros mediadores inflamatórios (Zucali *et al.*, 1987). As citocinas IL-1 β e IL-6 ainda têm sido relacionadas aos eventos inflamatórios de migração celular e reabsorção óssea (Graves, 1999), assim como a interleucina 17 (IL-17) (Takahashi *et al.*, 2005; Pradeep *et al.*, 2009; Em *et al.*, 2017). Além do efeito local, diversos estudos têm demonstrado que, na presença de periodontite, há a alteração dos níveis sistêmicos de IL-1 β (Fentoğlu *et al.*, 2011), IL-6 (Nakajima *et al.*, 2010), interleucina 10 (IL-10), TNF- α (Górska *et al.*, 2003; Andrukhov *et al.*, 2011), IL-17 (Cintra *et al.*, 2014; Abusleme e Moutsopoulos, 2017; Miranda *et al.*, 2019) e PCR (Paraskevas *et al.*, 2008).

Além da composição microbiana, as manifestações de periodontite resultam da influência de fatores modificadores da resposta imunológica do hospedeiro. Estes fatores podem ser biológicos, ambientais ou comportamentais, e podem aumentar diretamente o desenvolvimento e a progressão da doença. São reconhecidos fatores de risco para periodontite: o tabagismo (Grossi *et al.*, 1994; Tomar e Asma, 2000) e o diabetes (Grossi e Genco, 1998). Existem ainda, os indicadores de risco, que são apontados como possíveis fatores de risco da doença periodontal, os quais os mais citados incluem: idade (Grossi *et al.*, 1994), sexo (Kocher *et al.*, 2005), etnia (Grossi *et al.*, 1995), *status* socioeconômico (Susin *et al.*, 2004), ingestão de álcool (Pitiphat *et al.*, 2003), sedentarismo (Merchant *et al.*, 2003), síndrome metabólica, obesidade e estresse (Genco *et al.*, 1999; Dalla Vecchia *et al.*, 2005; Genco e Borgnakke, 2013).

1.3. OBESIDADE E PERIODONTITE

Nas últimas décadas, evidências obtidas a partir de estudos epidemiológicos e observacionais apontaram pra uma possível relação entre doença periodontal e diversas doenças de natureza sistêmica, como doença cardiovascular, diabetes, infecções pulmonares, artrite reumatoide e partos de prematuros (Li *et al.*, 2000; Mealey, 2006; Oppermann *et al.*, 2012).

A periodontite envolve um processo inflamatório crônico de baixa intensidade que, através da ação de mediadores pró-inflamatórios (IL-1 β , IL-6, TNF- α), pode contribuir para manutenção de um fenótipo inflamatório sistêmico e, desta forma, correlacionar-se a várias outras patologias (Moutsopoulos e Madianos, 2006). Além disso, acredita-se que a presença de bolsas periodontais inflamadas envolva uma área de epitélio dentogengival ulcerado, predispondo a episódios de bacteremia por patógenos periodontais (Kinane *et al.*, 2005; Loos, 2005). De fato, estudos observacionais recentes sobre a influência da periodontite e a sua relação com a obesidade demonstraram que o risco de desenvolvimento de doenças do metabolismo sistêmico pode estar aumentado em pacientes com periodontite não tratada (D'aiuto *et al.*, 2008; Morita *et al.*, 2016; Jaramillo *et al.*, 2017). É apontado ainda na literatura que a inter-relação entre as duas doenças estaria baseada no compartilhamento de fatores de risco em comum, como tabagismo, estresse, resistência a insulina, dietas desbalanceadas e estilo de vida sedentário (Al-Zahrani *et al.*, 2003; D'aiuto *et al.*, 2008; Bullon *et al.*, 2009). Da mesma forma, é proposto que muitos fatores de risco modificáveis e não modificáveis, entre eles a obesidade, podem alterar o risco individual de desenvolver periodontite, bem como a resposta à terapia periodontal (Van Dyke e Sheiresh, 2005).

O primeiro relato sobre a relação entre a obesidade e a doença periodontal apareceu no estudo de Perlstein e Bissada (1977) que observaram alterações histopatológicas no periodonto de ratos Zucker obesos. Usando o modelo de periodontite induzida por ligadura, demonstrou-se que ratos obesos apresentaram maior perda óssea alveolar em comparação com os não obesos (Perlstein e Bissada, 1977). Em ratos obesos e hipertensos, o acúmulo de placa causou destruição periodontal mais pronunciada do que nos animais somente obesos, sugerindo que uma combinação de fatores de risco, como os definidos pela síndrome metabólica (Koletsky, 1973; Perlstein e Bissada, 1977).

A destruição do tecido periodontal e a perda óssea alveolar associados à obesidade também foram avaliados em estudos recentes em modelo experimental animal, com diferentes achados (Simch *et al.*, 2008; Verzeletti *et al.*, 2012; Cavagni *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2013; Macri *et al.*, 2014; Kirzioglu *et al.*, 2016; Kuraji *et al.*, 2018; Zuza *et al.*, 2018). Endo e colaboradores (2010) observaram que ratos Zucker obesos e com periodontite induzida apresentaram níveis séricos significativamente maiores de TNF- α e PCR comparados aos grupos controle, somente com periodontite e somente obeso (Endo *et al.*, 2010). Em análise mais abrangente, Cavagni e colaboradores (2016) demonstraram, em amostras teciduais (fígado), níveis mais elevados de triglicerídeos e colesterol total para o grupo de ratos obesos com periodontite induzida comparados aos demais grupos. No mesmo estudo, no entanto, a avaliação das concentrações

séricas de IL-1 β e TNF- α não apontou diferenças entre grupos experimentais (Cavagni, J., De Macedo, I. C., *et al.*, 2016) . Evidência posterior mostrou, em ratos Wistar obesos e com periodontite induzida, níveis mais elevados de triglicérides, colesterol total, IL-1 β (soro e tecido gengival) e de TNF- α (soro e tecido gengival) quando comparados aos animais dos grupos controles (Virto *et al.*, 2018). Em camundongos, estudo recente apresentou maiores concentrações séricas de colesterol total, IL-10 e TNF- α para os animais obesos e com periodontite induzida, comparados aos animais não obesos e com periodontite (Yu *et al.*, 2019).

Paralelamente, estudos em humanos têm demonstrado que determinados indicadores de obesidade (maior IMC, maior circunferência abdominal, marcadores lipídicos elevados) estão relacionados a piores parâmetros clínicos da doença periodontal, como sangramento à sondagem, perda de inserção e maior perda óssea alveolar (Saito *et al.*, 2001; Al-Zahrani *et al.*, 2003; Dalla Vecchia *et al.*, 2005; Pischon *et al.*, 2007; Saito e Shimazaki, 2007; Keller *et al.*, 2015).

Em uma revisão sistemática com meta-análise realizada com dados publicados até 2010, Chaffee e Weston (2010) concluíram que é consistente a evidência de uma associação positiva entre a periodontite e a obesidade, porém, com poucos estudos longitudinais de qualidade, não foi possível distinguir a ordem temporal dos eventos, limitando assim, a comprovação da associação causal entre a doença periodontal e a obesidade (Chaffee e Weston, 2010). Meta-análise realizada por Suvan e colaboradores (2011), com revisão sistemática de publicações até 2009, indicaram associação significativa entre a periodontite e o IMC com *odds ratio* de 1,81(IC 95%, 1,42-2,30) na categoria obeso, 1,27 (IC 95%=1,06-1,51) para sobrepeso e 2,13 (IC 95%=1,40-3,26) para combinação obeso e sobrepeso (Suvan *et al.*, 2011). Resultados semelhantes foram observados em revisões sistemáticas com meta-análise publicadas subsequentemente (Moura-Grec *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2015), sendo ressaltado que estudos prospectivos são necessários para definir a magnitude desta associação e elucidar os mecanismos biológicos causais.

Estudo longitudinal de 27 anos, com amostra de 1038 indivíduos de uma associação de veteranos nos Estados Unidos, demonstrou que o risco de progressão da doença periodontal foi de 41 a 72% maior em homens obesos em relação aos homens com peso normal (Gorman *et al.*, 2012). Em 2016, na avaliação longitudinal de 5 anos de uma população no sul do Brasil, Gaio e colaboradores (2016) apontaram que indivíduos obesos apresentaram risco significativamente maior para progressão da perda de inserção periodontal quando comparados a indivíduos de peso normal (risco relativo=1,36, IC 95%=1,04-1,78). Na estratificação dos

dados, apenas as mulheres com obesidade tiveram maior risco de progressão da perda de inserção comparadas às mulheres de peso normal (risco relativo=1,64, IC 95%=1,11-2,43) (Gaio *et al.*, 2016).

Adicionalmente, a literatura apresenta resultados bastante divergentes em relação à análise sistêmica dos marcadores inflamatórios em pacientes com periodontite associados ou não ao quadro de obesidade (Chitsazi *et al.*, 2008; Pradeep *et al.*, 2012; Kose *et al.*, 2015; Thanakun e Izumi, 2016; Li *et al.*, 2018). Análises do fluído do sulco gengival de pacientes obesos com periodontite revelaram maiores concentrações de IL-1 β (Mod er *et al.*, 2011), TNF- α (Zimmermann *et al.*, 2013) e PCR (Pradeep *et al.*, 2013) quando comparados aos de pacientes com periodontite e peso normal. Em contrapartida, análise dos níveis séricos de IL-6 e TNF- α não detectou diferenças significativas entre os mesmos grupos (Zimmermann *et al.*, 2013).

Diversos estudos ainda têm demonstrado que a periodontite está relacionada ao aumento dos níveis de marcadores lipídicos, como o colesterol total e os triglicerídeos (Katz *et al.*, 2002; Monteiro *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2014). No entanto, poucos estudos observacionais levam em consideração a análise do perfil lipídico nas pesquisas sobre a relação entre a obesidade e a doença periodontal (Saxlin *et al.*, 2008; Monteiro *et al.*, 2009; Korhonen *et al.*, 2011). Trabalho recente de Cury e colaboradores (2018) revelou aumento significativo dos níveis de triglicerídeos nos indivíduos obesos com periodontite em comparação aos indivíduos não obesos, com e sem periodontite. Nos níveis séricos de colesterol, não houve diferenças entre os grupos. O grupo de pacientes não obesos e com periodontite, no entanto, apresentou perfil lipídico similar ao grupo somente obeso, indicando que as duas doenças podem ter comparável impacto sobre os níveis lipídicos, contribuindo individualmente para um perfil pr -aterogênico (Cury *et al.*, 2018).

1.4. INFLUÊNCIA DA TERAPIA PERIODONTAL SOBRE OBESIDADE

Além dos estudos observacionais demonstrando uma possível associação entre a doença periodontal e a obesidade, a justificativa para uma relação bidirecional envolve modificações diretas no comportamento das doenças a partir de estudos de intervenção. Neste contexto, eficácia na resposta de indivíduos obesos   terapia periodontal tem sido objeto de inúmeros estudos nos últimos anos, apresentando até o momento, resultados bastante contrastantes (Al-Zahrani e Alghamdi, 2012; Altay *et al.*, 2013; Suvan *et al.*, 2014; Goncalves, Feres, *et al.*, 2015; Balli *et al.*, 2016; Duzagac *et al.*, 2016; Martinez-Herrera *et al.*, 2018). Zuza e colaboradores

(2011) demonstraram que a terapia periodontal resultou em relevante melhora dos parâmetros clínicos periodontais, porém, de forma similar para os pacientes com periodontite, obesos e não obesos, no período de 12 semanas (Zuza *et al.*, 2011). No tempo de 8 semanas, Suvan e colaboradores (2014), observaram que indivíduos não obesos apresentaram uma condição clínica periodontal significativamente melhor do que os obesos após a terapia periodontal (Suvan *et al.*, 2014). Resultados semelhantes foram apresentados por Goncalves e colaboradores (2015) onde, após o tratamento, a profundidade de sondagem e a perda de inserção foram significativamente menores nos pacientes não obesos em comparação aos obesos, no período de 6 meses (Goncalves, Feres, *et al.*, 2015) e 12 meses (Goncalves, Zimmermann, *et al.*, 2015). Piores resultados ainda são observados em pacientes obesos, quando é avaliada a redução na porcentagem de sítios com bolsas moderadas/profundas após a terapia periodontal (Bouaziz *et al.*, 2015), sugerindo que a obesidade teria efeitos negativos sobre o desfecho do tratamento periodontal em pacientes com periodontite.

Evidências da reposta do perfil lipídico pós-terapia periodontal, em pacientes obesos e não obesos, ainda demonstra resultados divergentes. Na avaliação de pacientes com periodontite, Zuza e colaboradora (2016) observaram, inicialmente, pior perfil lipídico nos indivíduos obesos em comparação aos não obesos. Após a terapia periodontal, foi apontado uma redução significativa nos níveis de colesterol total e triglicerídeos apenas nos pacientes obesos, sugerindo um efeito positivo direto do tratamento periodontal, uma vez que o perfil de obesidade destes pacientes não foi alterado ao longo do estudo (Zuza *et al.*, 2016). Contudo, em outras avaliações, a terapia periodontal parece não ter influenciado de forma significativa no perfil lipídico de pacientes obesos. Níveis de triglicerídeos não demonstraram redução significativa após o tratamento periodontal e se mantiveram mais elevados nos pacientes obesos quando comparados aos não obesos (Altay *et al.*, 2013; Duzagac *et al.*, 2016).

Ainda se discute na literatura a eficácia na resposta à terapia periodontal de indivíduos obesos em relação aos níveis de marcadores inflamatórios. Estudo único em modelo experimental animal demonstrou que ratos obesos com periodontite tratada apresentaram concentrações séricas de PCR significativamente menores quando comparados ao grupo de ratos obesos com periodontite sem tratamento (Ni *et al.*, 2018). Em humanos com periodontite, a comparação da resposta ao tratamento periodontal têm mostrado que indivíduos obesos apresentam níveis mais elevados de TNF- α (Zuza *et al.*, 2011), IL-6 (Zuza *et al.*, 2011; Al-Zahrani e Alghamdi, 2012; Altay *et al.*, 2013) e PCR (Zuza *et al.*, 2016) comparados aos indivíduos não obesos, sugerindo-se que o estado pró-inflamatório relacionado à obesidade se manteve apesar da resolução do foco inflamatório periodontal. Balli e colaboradores (2016),

avaliando pacientes com periodontite, mostraram níveis iniciais de IL-6 significativamente maiores nos indivíduos obesos, os quais se mantiveram elevados após a terapia periodontal quando comparados aos dos não obesos (Balli *et al.*, 2016). Duzagac e colaboradores (2016), demonstraram redução dos níveis de marcadores inflamatórios após tratamento da periodontite. Porém, nos indivíduos obesos, as concentrações de TNF- α e PCR mantiveram-se mais elevadas comparadas as dos não obesos (Duzagac *et al.*, 2016). Outros estudos, por outro lado, não detectaram diferenças, demonstrando níveis semelhantes de TNF- α , PCR (Al-Zahrani e Alghamdi, 2012; Altay *et al.*, 2013) e IL-6 (Al-Hamoudi *et al.*, 2018) nos indivíduos obesos e não obesos, após a terapia periodontal.

Em razão do reduzido número de estudos, as revisões sistemáticas realizadas até o momento concluíram que não há evidências suficientes para avaliar a resposta da terapia periodontal sobre parâmetros clínicos de pacientes obesos com periodontite (Suvan *et al.*, 2011; Papageorgiou *et al.*, 2015; Akram *et al.*, 2016; Gerber *et al.*, 2016), sugerindo apenas que o tratamento poderia beneficiar a cicatrização periodontal deste indivíduos (Nascimento *et al.*, 2016). O mesmo pode-se concluir sobre os níveis de marcadores sistêmicos de pacientes obesos comparados aos não obesos após a terapia periodontal (Akram *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2016).

Com as informações expostas até aqui, é impossível ignorar a influência da resposta imune mediada por marcadores inflamatórios na associação entre as alterações do metabolismo sistêmico e a periodontite. Embora não seja definitivo, com a apreciação individual dos estudos, pode-se sugerir que as doenças crônicas bucais podem estar relacionadas de forma independente aos distúrbios metabólicos. Contudo, muitas evidências são apontadas que justificariam a plausibilidade biológica para a associação entre a obesidade e a periodontite. Podendo-se destacar a inflamação sistêmica de baixa intensidade, estresse oxidativo, resistência à insulina e dislipidemia. Por outro lado, os dados até momento apresentados, são insuficientes para determinar qual o impacto do tratamento da periodontite sobre os níveis séricos de mediadores inflamatórios e sobre o perfil lipídico de pacientes com obesidade. Para inferir os mecanismos de causalidade, novas abordagens necessitam ser realizadas, a fim de compreender o benefício potencial do tratamento no controle do perfil inflamatório e metabólico sistêmico.

Por conta de conflitos éticos, há uma dificuldade de realização de pesquisas de caráter experimental em seres humanos. À vista disso, é crescente a procura por modelos experimentais em animais que possam expressar de forma similar ou próxima, desfechos clínicos observados em humanos. Nesse sentido, os ratos Wistar constituem uma opção de fácil obtenção e manuseio. Estes animais apresentam ainda como vantagens similaridades anatômicas,

fisiopatológicas e bioquímicas que contribuem, até certo ponto, para a extrapolação de dados para os seres humanos. A presente tese assim, teve como um dos objetivos avaliar a influência do tratamento da periodontite experimental em ratos expostos a uma dieta indutora de obesidade (dieta de cafeteria) e em ratos expostos a uma dieta padrão. Este trabalho possibilitou a comparação de grupos com tratamento e sem tratamento da periodontite, podendo contribuir com a construção do conhecimento ao esclarecer o possível impacto sistêmico do tratamento periodontal.

2. OBJETIVOS:

2.1. OBJETIVO GERAL:

Avaliar a influência da periodontite induzida e do seu tratamento nos níveis séricos de marcadores bioquímicos e mediadores inflamatórios em ratos submetidos e não submetidos à dieta de cafeteria.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar o efeito da indução de periodontite sobre os níveis séricos de colesterol total, glicose, triglicerídeos e dos mediadores inflamatórios PCR, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17a e TNF- α , em ratos submetidos e não submetidos à dieta de cafeteria;
- Avaliar o efeito do tratamento não cirúrgico da periodontite induzida sobre os níveis séricos de colesterol total, glicose, triglicerídeos e dos mediadores inflamatórios PCR, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17a e TNF- α , em ratos submetidos e não submetidos à dieta de cafeteria.

3. MATERIAIS E MÉTODOS:

O presente estudo laboratorial em animais foi conduzido de acordo com os padrões estabelecidos no ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) (Kilkenny *et al.*, 2010). Este estudo utilizou um desenho experimental do tipo prospectivo, randomizado e controlado em modelo animal. Os procedimentos experimentais foram realizados no Centro de Modelos Biológicos Experimentais (CeMBE), no laboratório de Toxicologia Pré-clínica do Instituto de Toxicologia e Farmacologia (INTOX) e no laboratório de Biofísica Celular e Inflamação da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), e no laboratório de Respirologia Pediátrica do Hospital São Lucas.

Foram utilizados ratos Wistar machos (Cr1CeMBE:WI), obtidos do CeMBE, com 60 dias de idade e peso aproximado de 250 gramas. Os animais foram distribuídos em gaiolas apropriadas (2 a 3 animais por gaiola), fáceis de limpar e autoclaváveis, preenchidas com maravalha de pinus trocada três vezes por semana. Cada gaiola possuía um cartão de identificação devidamente preenchido contendo as seguintes informações: identificação da linhagem, idade e sexo do animal, identificação do pesquisador responsável, protocolo de dieta ofertada, data de início do período experimental. A manutenção dos animais foi feita no vivário do CeMBE, em estantes ventiladas, equipadas com filtros de entrada e saída de ar, com ruído máximo permitido de 85dB, com temperatura ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade ($50\pm 5\%$) controladas, e ciclo claro-escuro de 12 horas. Após o recebimento dos animais, foi estabelecido um tempo mínimo de adaptação de sete dias antes do início dos procedimentos experimentais.

3.1. TAMANHO DA AMOSTRA

Este estudo fez parte de um estudo maior realizado em conjunto com os pesquisadores do Programa de Pós-graduação em Endodontia da PUCRS. Dessa forma, o cálculo da amostra foi realizado com base nos resultados de um estudo realizado por Cintra e colaboradores (2014) (Cintra *et al.*, 2014), que avaliaram os níveis séricos de um mediador inflamatório associado à periodontite e à periodontite apical utilizando um modelo experimental animal. Foram consideradas as médias e desvios-padrão dos níveis séricos de IL-17 em ratos Wistar sem lesão periapical ($1,00\pm 0,99$) e com lesão periapical ($2,08\pm 0,58$), com $\alpha=5\%$ e poder de 90%, o que resultou em um tamanho amostral de 7 animais por grupo. Estimando-se uma possível perda de 20%, um número de 10 ratos por grupo foi estabelecido para a condução do estudo. Assim, um total de 60 ratos foram utilizados neste estudo.

3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 60 ratos foram divididos em seis grupos experimentais, com 10 animais em cada.

Os grupos com dieta padrão foram:

- G1 - sem periodontite
- G2 - com periodontite
- G3 - com periodontite tratada.

Os grupos com Dieta de Cafeteria foram:

- G4 - sem periodontite
- G5 - com periodontite
- G6 - com periodontite tratada

Para indução do quadro de obesidade, a administração da dieta de cafeteria nos grupos G4, G5 e G6 foi realizada por um período de 12 semanas prévio à realização dos procedimentos de indução da periodontite (Cavagni, J *et al.*, 2016). No grupo de dieta padrão, foi fornecida, *ad libitum*, uma ração comercial padrão (Nuvilab CR1, Quimtia S/A, Paraná, Brasil) e água potável, que atendia os requerimentos da espécie; no outro grupo, foi ofertado uma dieta palatável, hiperlipídica e hipercalórica, constituída de hidratos de carbono, lipídios, proteínas e outros elementos como sódio, cálcio, vitaminas, agentes conservantes e minerais. A dieta hiperlipídica e hipercalórica foi composta por alimentos e bebidas industrializados que reproduzem a alimentação humana conhecida como *fast food* (Tabela 1), conhecida na literatura como dieta de cafeteria ou dieta ocidental (Miesel *et al.*, 2010; Sampey, B. *et al.*, 2011; Cavagni, J., De Macedo, I. C., *et al.*, 2016). Os alimentos e as bebidas estiveram disponíveis *ad libitum* assim como a ração padrão. A dieta oferecida aos animais foi quantificada antes do consumo diário para cada gaiola e substituída diariamente para permitir consumo de alimentos frescos e variados.

Tabela 1. Dieta de cafeteria empregada

Alimentos	Marcas comerciais
Bolacha recheada de morango e chocolate	Trakinas [®]
Wafer de morango, chocolate, doce de leite e baunilha	Bauducco [®]
Leite condensado	Elegê [®]
Salsicha mista	Excelsior [®]
Refrigerante de cola	Coca-cola [®]
Salgadinho de milho, queijo e presunto	Elma Chips [®]

3.3. PESAGEM DOS ANIMAIS E CÁLCULO DO ÍNDICE DE LEE

O peso corporal e a medida naso-anal de cada animal foram registrados semanalmente, a fim de avaliar a obesidade de duas formas, através do peso corporal e do Índice Lee (raiz cúbica do peso corporal, em gramas, dividido pelo comprimento naso-anal, em centímetros, multiplicado por dez) (Bernardis e Patterson, 1968).

$$^3\sqrt{\text{pesocorporal}(g) / \text{comprimentonasoanal}(cm) \times 10}$$

A pesagem foi realizada através da utilização de uma balança eletrônica (balança de precisão AD2000, Marte Científica, São Paulo, Brasil). O comprimento naso-anal de cada animal foi medido utilizando-se uma fita métrica flexível, não extensível. Um acréscimo de $\pm 18\%$ sobre o peso inicial foi considerado como possível indutor de obesidade (Svensson *et al.*, 1996).

3.4. RANDOMIZAÇÃO

Os animais foram distribuídos randomicamente nos respectivos grupos experimentais. Para isso, os animais foram pesados e divididos em tertis de acordo com o peso corporal. Após, os mesmos foram sorteados para os respectivos grupos experimentais através de uma sequência aleatória de números.

3.5. INDUÇÃO DA PERIODONTITE

A periodontite foi induzida por meio da colocação de ligadura na região cervical do primeiro molar inferior (bilateralmente) dos ratos dos grupos G2, G3, G5 e G6. Após anestesiado, o animal foi posicionado com a boca aberta sobre uma mesa de acrílico especificamente desenvolvida para este tipo de estudo. As ligaduras foram feitas utilizando-se fio de seda 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil) colocadas ao redor dos dentes com auxílio de duas pinças porta agulha do tipo castroviejo no espaço interproximal distal, com o nó voltado para face vestibular, permanecendo por um período de quatro semanas. Os procedimentos para a colocação das ligaduras seguiram a metodologia proposta por estudos prévios (Sallay *et al.*, 1982; Galvao *et al.*, 2003). A presença e a correta posição da ligadura foram verificadas semanalmente através de exame clínico, até o final do estudo. Os procedimentos experimentais foram realizados sob anestesia com uma combinação de

cloridrato de quetamina de 100mg/Kg (Dopalem, São Paulo, Brasil), e cloridrato de xilazina 10mg/Kg (Anasedam, São Paulo, Brasil), administradas por via intraperitoneal.

3.6. TRATAMENTO DA PERIODONTITE

O tratamento da periodontite foi realizado quatro semanas após a indução das lesões, seguindo metodologia já descrita na literatura (Fernandes *et al.*, 2010; Ni *et al.*, 2018). Nos grupos G3 e G6, após seguir o mesmo protocolo de anestesia descrito na indução da periodontite, as ligaduras foram removidas seguido de instrumentação mecânica com raspagem e alisamento radicular nas faces interproximais, vestibular e lingual dos dentes selecionado. Foram utilizadas curetas Gracey, modelo mini-five, das séries 11-12 e 13-14 (Hu-Friedy, Chicago, Estados Unidos).

3.7. EUTANÁSIA, COLETA DAS AMOSTRAS E PREPARAÇÃO DO SORO

Com os animais anestesiados seguindo o mesmo protocolo descrito na indução da periodontite, as coletas sanguíneas foram realizadas nas semanas 12 (eutanásia G1 e G4), 16 (eutanásia G2 e G5) e 20 (eutanásia G3 e G6) após o início do período experimental, através da técnica de punção intracardíaca, com auxílio de seringas de 5mL estéreis descartáveis, com prévia anestesia dos animais. O sangue coletado foi imediatamente transferido para microtubos plásticos de 2mL, subsequentemente centrifugado (2000 rpm, 15min), e o soro recolhido e armazenado em freezer a temperatura -80°C até o momento dos ensaios laboratoriais. Após a coleta das amostras, foi realizada a eutanásia dos animais pelo médico veterinário responsável através da utilização de isoflurano, seguindo as diretrizes estabelecidas pelo CONCEA. As carcaças dos animais foram colocadas em sacos plásticos adequados e encaminhadas para descarte seguindo os protocolos do CeMBE.

As etapas realizadas no estudo estão expressas na Figura 1.

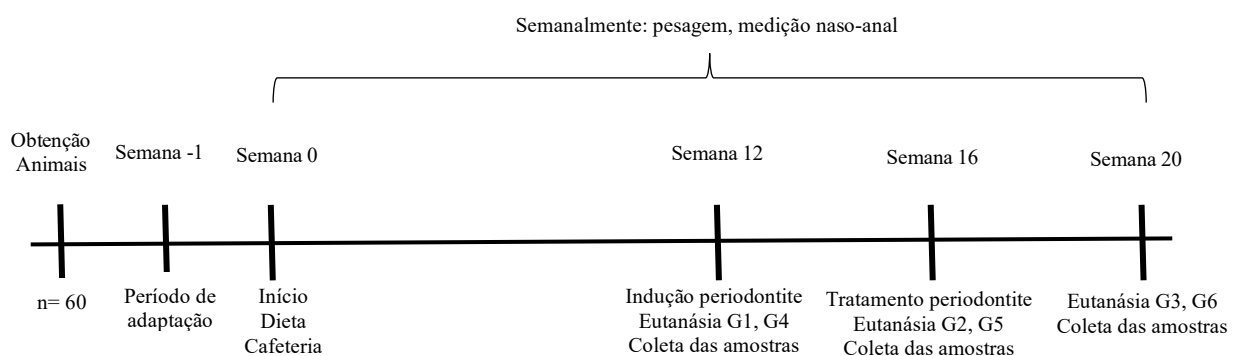


Figura 1. Fluxograma do estudo

3.8. DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA

O nível sérico de glicose foi medido através do kit comercial, Glicose Liquiform (ref. 133, Labtest Diagnóstica, Minas Gerais, Brasil). Para tanto, utilizou-se uma alíquota de 10 μ L da amostra, que foi misturada a 1mL da solução Reagente 1. Para confecção do padrão a ser usado como referência para o cálculo final, utilizou-se 10 μ L da solução Padrão Calibrador (glicose 100 mg/dL), misturado a 1mL do Reagente 1. Após 10 minutos de incubação a 37°C, as amostras e o padrão foram lidos em espectrofotômetro (modelo 600S, FEMTO, São Paulo, Brasil) em 505nm de absorvância, com cubetas plásticas de 1mL de volume e 1cm de comprimento óptico. Para obtenção dos valores de glicose em mg/dL foi aplicado a seguinte fórmula: valor de absorvância da amostra / valor de absorvância padrão x 100.

3.9. DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL E TRIGLICERÍDEOS

Os níveis séricos de colesterol total e de triglicerídeos foram medidos através dos kits comerciais, Colesterol Liquiform e Triglicérides Liquiform (refs. 76 e 87, Labtest Diagnóstica, Minas Gerais, Brasil). Para tanto, utilizou-se uma alíquota de 10 μ L da amostra, que foi misturada a 1mL da solução Reagente 1. Para confecção do padrão a ser usado como referência para o cálculo final, utilizou-se 10 μ L da solução Padrão Calibrador (colesterol: azida sódica 15mmol/L; triglicerídeos: triglicerídeos 200mg/dL e azida sódica 0,045%), misturado a 1mL do Reagente 1. Após 10 minutos de incubação a 37°C, as amostras e o padrão foram lidos em espectrofotômetro (modelo 600S, FEMTO, São Paulo, Brasil) em 505nm de absorvância, com cubetas plásticas de 1mL de volume e 1cm de comprimento óptico. Para obtenção dos valores de colesterol total e triglicerídeos em mg/dL foi aplicado a seguinte fórmula: valor de absorvância da amostra / valor de absorvância padrão x 200.

3.10. DETERMINAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS

As concentrações séricas da PCR e das citocinas foram medidas através do ensaio com a plataforma Luminex com kits Multiplex customizados, seguindo as recomendações do fabricante. Para a análise de IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17a e TNF- α utilizou-se o kit Rat Custom ProcartaPlex 5-plex (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Estados Unidos). Para a análise de PCR utilizou-se o kit ProcartaPlex Rat CRP Simplex (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Estados Unidos). As placas com as amostras foram processadas utilizando-se aparelho MagPix (MILLIPIX, Millipore, Alemanha). Os resultados foram analisados através do software

xPONENT 4.2 (MILLIPLEX, Millipore, Alemanha) e o valor final de cada amostra expresso em pg/mL e µg/L.

3.11. CONTROLE DE QUALIDADE

Durante todas as avaliações os pesquisadores não tinham acesso à qual grupo o animal fazia parte tendo acesso apenas ao código de randomização do mesmo. Um único pesquisador treinado realizou os ensaios laboratoriais bioquímicos de forma cega. O processamento dos marcadores inflamatórios foi realizado também por um pesquisador externo ao estudo de forma cega.

A pesagem dos animais e a mensuração do comprimento naso-anal foram realizados por um pesquisador calibrado. A reprodutibilidade foi realizada semanalmente através da dupla mensuração de ambos os parâmetros em 10% da amostra. Os resultados obtidos mantiveram-se sempre próximos de 0,98 para o peso e variaram de 0,87 a 0,95 para o comprimento naso-anal.

Os ensaios bioquímicos foram realizados por um pesquisador treinado e calibrado. O treinamento ocorreu uma semana prévia aos experimentos e a reprodutibilidade foi realizada durante a etapa de análise. Para isso, 10% das amostras foram selecionadas de forma aleatória para serem duplamente mensuradas nos parâmetros de glicose, colesterol total e triglicérides. O coeficiente de correlação intra-classe foi de 0,99.

Os marcadores inflamatórios foram dosados por um único examinador com experiência neste tipo de ensaio, respeitando todas as recomendações do fabricante.

3.12. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este trabalho foi estruturado obedecendo a normas propostas pela Declaração Universal dos Direitos dos Animais (UNESCO - 27 de janeiro de 1978) e das Orientações Éticas Internacionais para Pesquisa Biomédica Envolvendo Animais (Council for International Organizations of Medical Sciences - CIOMS), bem como as diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). A pesquisa foi aprovada no Sistema de Pesquisas (Sipesq n. 7863, 08 de março de 2017) e no Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da PUCRS (21 de março de 2017).

3.13. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O desfecho primário do presente estudo foi a concentração sérica de PCR. Os demais marcadores foram considerados desfechos secundários. Para todos os desfechos foram aplicados testes de comparações para amostras independentes. Tendo em vista a distribuição assimétrica da maioria dos desfechos, os resultados foram expressos em mediana seguida de valores mínimo e máximo. As comparações entre os grupos foram realizadas com o teste de Kruskal-Wallis, seguido de testes de Mann-Whitney. O pacote estatístico Stata foi usado para as análises.

4. RESULTADOS

O peso médio dos ratos que receberam dieta normal foi de $567,6 \pm 57,9$ gramas, enquanto que no grupo de ratos da dieta de cafeteria foi de $675,6 \pm 83,6$ gramas, equivalendo a um peso 19% maior nos ratos da dieta de cafeteria. O Índice de Lee foi significativamente maior ($p < 0,0001$) nos ratos da dieta de cafeteria ($3,28 \pm 0,09$) comparados aos da dieta normal ($3,15 \pm 0,08$). A Figura 2 mostra os pesos inicial e final dos ratos de acordo com a dieta e a indução e tratamento da periodontite. Houve um aumento significativo no peso em todos os grupos, entretanto este aumento foi significativamente maior nos 3 grupos da dieta de cafeteria.

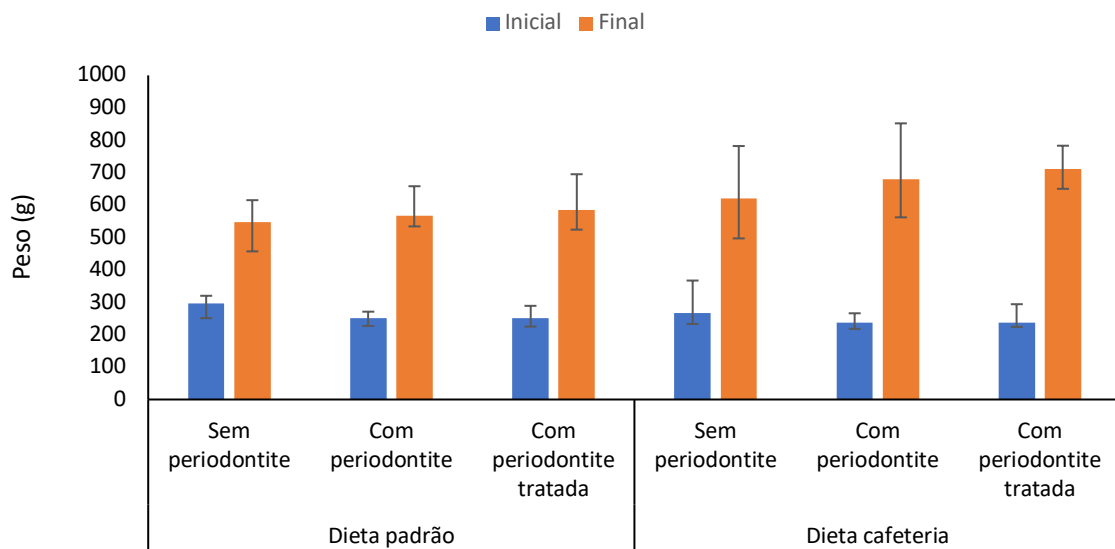


Figura 2. Mediana (valores máximo e mínimo) do peso dos ratos de acordo com a dieta e os grupos de indução e tratamento da periodontite.

A Tabela 2 mostra a concentração de PCR em $\mu\text{g/L}$. Dentre os ratos com dieta normal, a indução e o tratamento da periodontite não resultaram em mudanças significativas na concentração de PCR. Já nos ratos que receberam a dieta de cafeteria, aqueles com periodontite tiveram significativamente maior concentração de PCR do que os ratos sem periodontite. Além disso, ratos com dieta de cafeteria e com periodontite tiveram significativamente maior concentração de PCR do que os ratos com dieta normal com periodontite.

Tabela 2. Concentração de PCR ($\mu\text{g/L}$) de acordo com os grupos experimentais.

grupo		Mediana (mínimo – máximo)
Dieta normal	Sem periodontite	7,04 (2,45 – 31,88)
	Com periodontite	5,32 (3,23 – 7,68)
	Com periodontite tratada	6,51 (4,58 – 10,27)
Dieta cafeteria	Sem periodontite	4,47 (2,39 – 8,40)
	Com periodontite	10,15 (1,69 – 41,87)
	Com periodontite tratada	8,12 (1,36 – 35,75)

Flechas indicam diferença significativa entre os grupos.

A Tabela 3 demonstra as concentrações das citocinas avaliadas de acordo com os grupos experimentais. Nenhuma diferença significativa foi observada na concentração de IL-6 e IL-10 entre os grupos. Observou-se um padrão de elevação na concentração de todas as citocinas após o tratamento no grupo exposto à dieta de cafeteria, exceto na IL-17a. Entretanto, diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas na IL-1 β e no TNF- α . Adicionalmente, o grupo que recebeu tratamento da periodontite teve maior concentração de TNF- α em comparação ao grupo sem periodontite. Nos ratos com dieta padrão, houve mudanças significativas somente na IL-17a. Especificamente, os ratos com periodontite induzida tiveram maior nível de IL-17a do que os ratos sem periodontite. Além disso, o grupo que recebeu tratamento da periodontite teve maior concentração de IL-17a do que o grupo sem periodontite.

Dentre os ratos com dieta normal e dieta de cafeteria, a indução e o tratamento da periodontite não resultaram em mudanças significativas na glicose (Tabela 4). Grupos com periodontite e com periodontite tratada que receberam dieta de cafeteria tiveram significativamente maior concentração de glicose do que os que receberam dieta normal. Em relação ao colesterol, a dieta de cafeteria não alterou suas concentrações em comparação a dieta normal, sendo que a única diferença significativa foi a de que dentre os ratos com dieta de cafeteria que receberam tratamento da periodontite a concentração de colesterol foi menor do que os ratos com periodontite. Os triglicerídeos foi o marcador que mais alterou com a dieta, sendo que houve diferenças significativas entre todos os três grupos de periodontite com dieta normal e de cafeteria.

Tabela 3. Mediana (mínimo e máximo) dos níveis de citocinas (pg/mL) de acordo com os grupos experimentais.

Grupo		IL-1 β	IL-6	IL-10	IL-17a	TNF- α
Dieta padrão	Sem periodontite	14,1 (3,4 – 23,9)	1,7 (0,7 – 4,1)	11,8 (4,7 – 21,0)	0,8 (0,3 – 1,5)	0,1 (0,02 – 0,5)
	Com periodontite	13,2 (2,9 – 59,2)	1,7 (0,5 – 6,5)	12,2 (4,5 – 54,7)	1,1 (0,6 – 4,8)	0,2 (0,03 – 1,2)
	Com periodontite tratada	13,2 (7,3 – 49,8)	1,4 (0,9 – 5,1)	13,3 (7,9 – 43,1)	1,3 (0,7 – 3,6)	0,2 (0,03 – 1,2)
Dieta cafeteria	Sem periodontite	9,7 (2,7 – 23,9)	1,9 (0,7 – 3,1)	11,9 (6,5 – 16,4)	0,8 (0,4 – 1,3)	0,2 (0,03 – 0,2)
	Com periodontite	16,1 (4,3 – 20,2)	1,9 (1,2 – 2,7)	14,2 (5,5 – 25,7)	1,0 (0,4 – 1,5)	0,2 (0,05 – 0,3)
	Com periodontite tratada	22,5 (4,3 – 39,3)	2,1 (1,3 – 5,8)	20,3 (7,4 – 238,4)	0,9 (0,5 – 3,1)	0,5 (0,03 – 0,8)

Flechas indicam diferença significativa entre os grupos.

Tabela 4. Mediana (mínimo e máximo) dos níveis de marcadores metabólicos (mg/dL) de acordo com os grupos experimentais.

Grupo		Glicose	Colesterol total	Triglicerídeos
Dieta padrão	Sem periodontite	322,9 (245,9 – 390,9)	94,6 (52,0 – 133,6)	105,5 (66,7 – 173,1)
	Com periodontite	269,2 (211,2 – 433,2)	99,6 (85,4 – 137,3)	135,1 (71,8 – 266,7)
	Com periodontite tratada	251,7 (204,5 – 397,3)	91,9 (43,5 – 141,8)	144,6 (57,7 – 296,2)
Dieta cafeteria	Sem periodontite	326,1 (148,8 – 455,1)	69,4 (53,9 – 127,7)	263,3 (193,2 – 362,9)
	Com periodontite	354,7 (228,3 – 443,7)	87,8 (67,2 – 132,1)	229,8 (121,2 – 507,3)
	Com periodontite tratada	340,7 (279,3 – 474,5)	56,3 (30,2 – 96,0)	263,6 (118,7 – 370,9)

Flechas indicam diferença significativa entre os grupos.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os padrões sistêmicos de PCR e outros marcadores biológicos inflamatórios e metabólicos em ratos expostos à dieta de cafeteria com periodontite induzida ou tratada. A periodontite exerceu um efeito deletério aditivo na presença da dieta de cafeteria, visto que a dieta exclusivamente não alterou os níveis de PCR enquanto que a mediana dos níveis de PCR foi duas vezes maior nos ratos que tiveram periodontite em comparação aos sem periodontite quando expostos à esta dieta. Por outro lado, no modelo experimental aplicado neste estudo, o tratamento da periodontite não resultou em melhorias sistêmicas nos marcadores inflamatórios sistêmicos avaliados.

A PCR é uma proteína de fase aguda sintetizada principalmente pelo fígado a partir da sua estimulação por outros marcadores inflamatórios como IL-1 β , IL-6 e TNF- α (Gabay e Kushner, 1999; Libby e Ridker, 1999). Em humanos, concentrações de PCR maiores que 3mg/L são consideradas elevadas e um importante marcador de risco para eventos cardiovasculares (Ridker *et al.*, 2000; Pearson *et al.*, 2003) e desordens metabólicas (Ridker *et al.*, 2003; Acharya *et al.*, 2010). Níveis alterados de PCR podem ser observados em todas as patologias relacionadas à síndrome metabólica, incluindo dislipidemia, diabetes, resistência a insulina, hipertensão e a obesidade (Ridker *et al.*, 2003; Tamakoshi *et al.*, 2003). Além disso, altas concentrações de PCR têm sido relacionados independentemente com a presença de periodontite severa (Zhu *et al.*, 2000; Noack *et al.*, 2001; Amar *et al.*, 2003; Craig *et al.*, 2003), evidenciando a resposta inflamatória sistêmica dose-dependente à gravidade da doença periodontal. A especificidade desta relação também foi observada quando altos níveis de PCR foram relacionados a pacientes com periodontite e elevadas titulações de *P. gingivalis*, mas não de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Dye *et al.*, 2005; Pitiphat *et al.*, 2008).

Neste contexto, evidências na literatura mostram que a terapia periodontal esteve associada a uma redução moderada, mas significativa de marcadores sistêmicos da inflamação, incluindo uma discreta redução dos níveis de PCR em indivíduos sem obesidade (Iwamoto *et al.*, 2003; Ide *et al.*, 2004; D'aiuto *et al.*, 2005; Ioannidou *et al.*, 2006; Paraskevas *et al.*, 2008). Ao contrário do que se esperava, neste estudo os ratos com periodontite tratada expostos à dieta de cafeteria não demonstraram níveis de PCR significativamente menores em relação ao grupo com periodontite sem tratamento expostos à mesma dieta. Resultados diferentes foram observados por Ni e colaboradores, no qual o grupo de ratos obesos com periodontite tratada apresentou níveis de PCR significativamente menores quando comparados ao grupo de animais obesos com periodontite sem tratamento (Ni *et al.*, 2018). Entretanto, a interpretação

comparativa de tais achados deve ser feita com cautela. Além do modelo experimental animal apresentar certas limitações, as metodologias aplicadas para a indução, tanto da periodontite quanto da obesidade, encontradas na literatura são diversas. Em seu estudo, Ni e colaboradores (2018) utilizaram para a indução da periodontite ligaduras com fio de seda embebidos em *P. gingivalis* e a eutanásia dos animais ocorreu 2 semanas após o tratamento periodontal. Para a indução da obesidade, os animais foram expostos à um tipo de dieta com alto teor de gordura (*high fat diet*). Estes métodos são bastante diferentes dos aplicados neste estudo.

É relevante ainda ressaltar que, apesar da visível importância da PCR em eventos inflamatórios, até o momento poucos estudos na literatura abordaram o efeito da terapia periodontal sobre os níveis séricos deste marcador em populações com obesidade. Zuza e colaboradores (2016) observaram, em pacientes obesos e não obesos uma redução significativa das concentrações de PCR 90 dias após a terapia periodontal (Zuza *et al.*, 2016). O efeito positivo do tratamento da periodontite também foi observado na avaliação de pacientes com outras desordens metabólicas associadas à obesidade. Estudos de Acharya e colaboradores (2010) e Torumtay e colaboradores (2015) demonstraram uma redução significativa dos níveis de PCR em pacientes com síndrome metabólica 90 dias após o tratamento periodontal. O mesmo não pode ser observado no grupo de pacientes com periodontite sistemicamente saudáveis (Acharya *et al.*, 2010; Torumtay *et al.*, 2015). Em contrapartida, resultados diferentes foram observados por Altay e colaboradores (2013) onde não houve diferenças significativas nas concentrações de PCR, antes e após o tratamento periodontal, em pacientes obesos e não obesos. Entretanto, a descrição deste último estudo sugere limitações metodológicas com viés de seleção, como o alto valor de IMC da amostra não obesa (média de 26,3 kg/m²), e presença em ambos os grupos de pacientes tabagistas e com outras alterações bucais (Altay *et al.*, 2013). O mesmo não foi apontado nos demais estudos acima citados.

Adicionalmente, há de se destacar que, neste estudo, a presença de periodontite elevou significativamente a concentração da PCR no grupo de ratos expostos à dieta de cafeteria (10,15µg/L) em relação àqueles sem periodontite expostos à mesma dieta (4,47µg/L) e aos com periodontite expostos à dieta padrão (5,32µg/L). Este achado corrobora com os observados em estudo em humanos onde pacientes com periodontite obesos apresentaram, na avaliação inicial, concentrações séricas de PCR significativamente maiores quando comparados aos pacientes com periodontite sistemicamente saudáveis (Zuza *et al.*, 2011; Pradeep *et al.*, 2013). Diferença semelhante foi observada nos níveis séricos de PCR em pacientes com periodontite e síndrome metabólica, comparados aos pacientes somente com periodontite (Acharya *et al.*, 2010; Torumtay *et al.*, 2015).

Sabe-se que os ratos, como os humanos, apresentam diferentes susceptibilidades ao desenvolvimento da obesidade induzida pela dieta (Tulipano *et al.*, 2004). No presente estudo, a dieta de cafeteria foi utilizada por um período de 12 semanas para a indução da obesidade. Esta dieta é composta principalmente por alimentos com alto teor de lipídios e carboidratos e, tenta reproduzir o padrão moderno de consumo alimentar humano conhecido por *fast-food*. Sampey e colaboradores (2011) validaram este modelo de dieta, demonstrando que ela é capaz de aumentar o peso corporal, bem como os níveis de lipídios e glicose (Sampey, B. P. *et al.*, 2011). De fato, o grupo de animais aqui expostos a dieta de cafeteria apresentou 19% a mais de peso comparados ao grupo de dieta padrão. Esta diferença tem sido apontada na literatura como parâmetro que comprova a indução de obesidade (Svensson *et al.*, 1996). Resultados semelhantes foram observados na análise do índice de Lee, a qual revelou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, confirmando o estabelecimento do quadro de obesidade.

O perfil lipídico apresentado em nosso estudo demonstrou que os animais expostos à dieta de cafeteria com periodontite tratada apresentaram valores séricos de colesterol total significativamente menores do que os ratos com periodontite sem tratamento expostos a mesma dieta. No grupo exposto à dieta padrão essa diferença não foi observada, sugerindo um benefício direto da terapia periodontal relacionado apenas ao grupo associado à obesidade. A literatura apoia estes achados em estudo em humanos, nos quais foi observado redução significativa dos níveis séricos de colesterol total após a terapia periodontal no grupo de pacientes com obesidade, mas não no grupo não obeso (Zuza *et al.*, 2011).

A avaliação adicional dos demais parâmetros metabólicos descritos neste estudo indicou diferenças significativas apenas entre os grupos expostos à dieta de cafeteria em comparação aos seus respectivos grupos de referência expostos à dieta padrão. O acréscimo observado nos níveis séricos de triglicerídeos e glicose apenas indicou o efeito da dieta indutora de obesidade nos grupos expostos a ela, não apontando a influência da doença periodontal ou do seu tratamento. Estudos clínicos em humanos com obesidade também não observaram diferenças significativas nos níveis séricos de triglicerídeos entre os pacientes com e sem periodontite (Cury *et al.*, 2018) ou após a terapia periodontal (Altay *et al.*, 2013). Contudo, Cavagni e colaboradores (2016), utilizando modelo experimental semelhante ao utilizado nesta tese, mostraram que o grupo de ratos obesos com periodontite apresentou valores de triglicerídeos e colesterol total significativamente maiores do que os grupos somente obeso e somente com periodontite (Cavagni, J., De Macedo, I.C., *et al.*, 2016). Destaca-se que, a análise destes marcadores lipídicos foi feita a partir de amostra tecidual do fígado, sugerindo que o sítio de

avaliação possa ser determinante para a obtenção de dados mais apurados e significativos que representem o desfecho pesquisado. Isso se torna mais relevante se consideramos que estudos recentes indicam uma associação, tanto da obesidade como da periodontite, com a doença hepática não alcóolica gordurosa (Dos Santos Carvalho *et al.*, 2017; Sanyal, 2019; Vasconcelos *et al.*, 2019).

Diferentemente do que se esperava, foi observado que as citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α apresentaram uma elevação em suas concentrações nos grupos expostos à dieta de cafeteria com periodontite tratada. Este aumento, no entanto, foi significativo apenas para os marcadores IL-1 β e TNF- α . Nos animais expostos à dieta padrão evidenciou-se níveis séricos de IL-17a mais elevados também no grupo de periodontite tratada, indicando que a periodontite com ou sem tratamento eleva as concentrações deste marcador. Dessa forma, o perfil de expressão das citocinas apresentados em nosso estudo representa um desafio a ser interpretado. Cabe dizer que o presente estudo não é paralelo a nenhum outro estudo na literatura que possa fornecer uma explicação razoável para as diferenças apresentadas.

Na análise dos marcadores inflamatórios, a própria literatura de estudos em humanos apresenta resultados bastante heterogêneos, os quais podem ser justificados por uma série de fatores, entre eles a variabilidade de resposta à terapia entre a população avaliada (Behle *et al.*, 2009). O tempo de avaliação também parece influenciar na obtenção de significância entre os resultados. Brito e colaboradores (Brito *et al.*, 2013), por exemplo, encontraram diferenças significativas entre os níveis séricos de PCR entre os ratos com periodontite comparados aos sem periodontite no tempo de 14 dias, mas não no de 28 dias (Brito *et al.*, 2013). Além disso, o local de coleta da amostra (soro, plasma, tecido, saliva, fluído do sulco gengival) parece influenciar na detecção de valores diferentes e, assim influenciar na representatividade dos resultados (Pradeep *et al.*, 2012; Zimmermann *et al.*, 2013; Kose *et al.*, 2015; Ebersole *et al.*, 2017).

A variabilidade de dados no modelo experimental selecionado também não deve ser desconsiderada. O presente estudo foi realizado em ratos Wistar, amplamente utilizados em estudos sobre patogênese de doenças periodontais e distúrbios metabólicos, sendo um modelo reconhecido e adequado com algum potencial de transladação (Weinberg e Bral, 1999; Oz e Puleo, 2011; Sampey, B. *et al.*, 2011). Durante o tempo experimental, quatro animais foram perdidos por razões não relacionadas ao protocolo do estudo. Por fazer parte de uma pesquisa maior, nosso cálculo amostral foi baseado em estudo único na literatura que abordou a influência da periodontite e periodontite apical sobre os níveis séricos de um marcador inflamatório em ratos diabéticos. Talvez uma amostra maior trouxesse mais esclarecimentos

sobre o efeito do tratamento periodontal em biomarcadores na obesidade. Tomando como referência outros estudos com modelo experimental semelhante, a amostra utilizada foi de 15 animais por grupo (Cavagni, J., De Macedo, I. C., *et al.*, 2016).

Em relação à dieta indutora de obesidade, apesar do modelo de dieta de cafeteria escolhido pelo nosso estudo ser apontado na literatura como o que mais se aproxima da dieta moderna humana relacionada a desordens metabólicas (Sampey, B. *et al.*, 2011), ele tem sido recentemente criticado por não apresentar uma padronização. Diferentes pesquisas têm selecionado subjetivamente seus alimentos baseando-se, muitas vezes, em lanches regionais. Cita-se ainda que, os alimentos altamente processados encontrados nesta dieta geralmente contêm menor quantidade de nutrientes (proteínas, minerais e vitaminas) e grandes quantidades de aditivos (conservantes, corantes), o que poderia contribuir para deficiências nutricionais e causar interferência adicional (e não detectável) nos resultados. Bortolin e colaboradores (2018) em recente estudo, identificou que ratos alimentados com quatro diferentes tipos de dietas para indução da obesidade (hiperlipídica, hipolipídica, cafeteria e dieta ocidental) exibiram fenótipos completamente distintos, destacando a importância da seleção da dieta. Este estudo também revelou que a dieta ocidental, protótipo desenvolvido pelo seu grupo (de forma padronizada), foi mais eficaz na indução da obesidade e comorbidades relacionadas a ela. Cabe ainda destacar, que a dieta de cafeteria promoveu maior disbiose intestinal, provavelmente justificada pela presença de dos aditivos acima citados (Bortolin *et al.*, 2018).

Um outro aspecto a ser abordado é referente ao tempo experimental aplicado para as diferentes variáveis. Em nosso estudo, a periodontite foi induzida pelo período de 4 semanas e seu tratamento realizado 4 semanas depois. Em uma análise morfológica e histológica, estudo recente, comparando diferentes tempos de indução de periodontite em ratos (0-60 dias), observou que o período de três dias a sete dias é o suficiente para se obter um perda óssea alveolar significativa e, após quinze dias, ela se mantém estabilizada (Vargas-Sanchez *et al.*, 2017). Contudo, considerando uma análise de marcadores inflamatórios no tecido gengival de ratos com periodontite induzida, de Molon e colaboradores (2018) demonstraram um aumento significativo na expressão gênica de IL-1 β , IL-6 e TNF- α na primeira semana do estudo. Na segunda e terceira semana de avaliação (fase crônica), não foram observadas alterações significativas nas expressões gênicas de IL-6, IL-1 β e TNF- α (De Molon *et al.*, 2018).

Deve-se destacar assim que, os achados do presente estudo em animais precisam ser interpretados na perspectiva da capacidade de gerar evidências. Estudos com ratos são importantes para estabelecer a plausibilidade biológica; no entanto, o potencial de translação

não é direto. Estudos em humanos, em contextos clínicos, são necessários para confirmação dos achados presentes.

6. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a periodontite associada à obesidade elevou os níveis séricos de PCR indicando um papel sinérgico da periodontite no grau inflamatório sistêmico desencadeado pela obesidade. Por outro lado, o tratamento da periodontite induzida não resultou em melhorias sistêmicas nos marcadores inflamatórios e metabólicos avaliados, à exceção do colesterol total no grupo exposto à dieta de cafeteria.

REFERÊNCIAS:

ABUSLEME, L.; MOUTSOPOULOS, N. M. IL-17: overview and role in oral immunity and microbiome. **Oral Dis**, v. 23, n. 7, p. 854-865, Oct 2017. ISSN 1601-0825. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27763707> >.

ACHARYA, A. et al. Cardioprotective effect of periodontal therapy in metabolic syndrome: a pilot study in Indian subjects. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 8, n. 4, p. 335-41, Aug 2010. ISSN 1540-4196.

AKRAM, Z. et al. Efficacy of non-surgical periodontal therapy in the management of chronic periodontitis among obese and non-obese patients: a systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig**, v. 20, n. 5, p. 903-14, Jun 2016. ISSN 1432-6981.

AL-HAMOUDI, N. et al. Non-surgical periodontal therapy reduces salivary adipocytokines in chronic periodontitis patients with and without obesity. **J Investig Clin Dent**, v. 9, n. 2, p. e12314, May 2018. ISSN 2041-1618.

AL-ZAHRANI, M. S.; ALGHAMDI, H. S. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein level in obese and normal-weight women affected with chronic periodontitis. **Saudi Med J**, v. 33, n. 3, p. 309-14, Mar 2012. ISSN 0379-5284 (Print) 0379-5284.

AL-ZAHRANI, M. S.; BISSADA, N. F.; BORAWSKIT, E. A. Obesity and periodontal disease in young, middle-aged, and older adults. **J Periodontol**, v. 74, n. 5, p. 610-5, May 2003. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12816292> >.

ALTAY, U.; GURGAN, C. A.; AGBAHT, K. Changes in inflammatory and metabolic parameters after periodontal treatment in patients with and without obesity. **J Periodontol**, v. 84, n. 1, p. 13-23, Jan 2013. ISSN 0022-3492.

AMAR, S. et al. Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 7, p. 1245-9, Jul 1 2003. ISSN 1524-4636 (Electronic) 1079-5642 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12763762> >.

ANDRUKHOV, O. et al. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. **J Periodontol**, v. 82, n. 6, p. 885-92, Jun 2011. ISSN 1943-3670. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21138356> >.

BALLI, U. et al. Chemerin and interleukin-6 levels in obese individuals following periodontal treatment. **Oral Dis**, v. 22, n. 7, p. 673-80, Oct 2016. ISSN 1601-0825. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27265537> >.

BEHLE, J. H. et al. Heterogeneity of systemic inflammatory responses to periodontal therapy. **J Clin Periodontol**, v. 36, n. 4, p. 287-94, Apr 2009. ISSN 1600-051X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19426174> >.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between Lee Index and Carcass Fat Content in Weanling and Adult Female Rats with Hypothalamic Lesions. **Journal of**

Endocrinology, v. 40, n. 4, p. 527+, 1968. ISSN 0022-0795. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1968A974200014 >.

BORTOLIN, R. C. et al. A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. **International Journal of Obesity**, v. 42, n. 3, p. 525-534, Mar 2018. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000428844600032 >.

BOUAZIZ, W. et al. Adiposity Measurements and Non-Surgical Periodontal Therapy Outcomes. **J Periodontol**, v. 86, n. 9, p. 1030-7, Sep 2015. ISSN 1943-3670. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25855570> >.

BRAY, G. A. Obesity is a chronic, relapsing neurochemical disease. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 28, n. 1, p. 34-8, Jan 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14557829> >.

BRITO, L. et al. Experimental periodontitis promotes transient vascular inflammation and endothelial dysfunction. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 9, p. 1187-1198, SEP 2013 2013. ISSN 0003-9969.

BULLON, P. et al. Metabolic syndrome and periodontitis: is oxidative stress a common link? **J Dent Res**, v. 88, n. 6, p. 503-18, Jun 2009. ISSN 1544-0591. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19587154> >.

CAVAGNI, J. et al. Obesity and Hyperlipidemia Modulate Alveolar Bone Loss in Wistar Rats. **Journal of Periodontology**, v. 87, n. 2, p. E9-E17, FEB 2 2016 2016. ISSN 0022-3492.

_____. Obesity and Hyperlipidemia Modulate Alveolar Bone Loss in Wistar Rats. **J Periodontol**, v. 87, n. 2, p. e9-17, Feb 2016. ISSN 1943-3670 (Electronic) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26376945> >.

_____. Obesity and Hyperlipidemia Modulate Alveolar Bone Loss in Wistar Rats. **Journal of Periodontology**, v. 87, n. 2, p. E9-E17, FEB 2 2016 2016. ISSN 0022-3492.

_____. Obesity may increase the occurrence of spontaneous periodontal disease in Wistar rats. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 8, p. 1034-1039, AUG 2013 2013. ISSN 0003-9969.

CHAFFEE, B. W.; WESTON, S. J. Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. **J Periodontol**, v. 81, n. 12, p. 1708-24, Dec 2010. ISSN 0022-3492.

CHITSAZI, M. T. et al. Association of Periodontal Diseases with Elevation of Serum C-reactive Protein and Body Mass Index. **J Dent Res Dent Clin Dent Prospects**, v. 2, n. 1, p. 9-14, Winter 2008. ISSN 2008-210X (Print) 2008-210x.

CINTRA, L. et al. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 9, p. 2123-2128, DEC 2014 2014. ISSN 1432-6981.

CRAIG, R. G. et al. Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. **J Periodontol**, v. 74, n. 7, p. 1007-16, Jul 2003. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12931763> >.

CURY, E. Z. et al. Lipid parameters in obese and normal weight patients with or without chronic periodontitis. **Clin Oral Investig**, v. 22, n. 1, p. 161-167, Jan 2018. ISSN 1432-6981.

D'AIUTO, F. et al. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. **Journal of Dental Research**, v. 84, n. 3, p. 269-273, Mar 2005. ISSN 0022-0345. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227488000012 >.

_____. Association of the metabolic syndrome with severe periodontitis in a large U.S. population-based survey. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 10, p. 3989-94, Oct 2008. ISSN 0021-972X (Print) 0021-972x.

DALLA VECCHIA, C. F. et al. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. **J Periodontol**, v. 76, n. 10, p. 1721-8, Oct 2005. ISSN 0022-3492 (Print) 0022-3492.

DE MOLON, R. S. et al. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. **Microsc Res Tech**, v. 81, n. 12, p. 1412-1421, Dec 2018. ISSN 1097-0029 (Electronic) 1059-910X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30351474> >.

DOS SANTOS CARVALHO, J. et al. Steatosis caused by experimental periodontitis is reversible after removal of ligature in rats. **J Periodontol Res**, v. 52, n. 5, p. 883-892, Oct 2017. ISSN 1600-0765. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28504459> >.

DUSSERRE, E.; MOULIN, P.; VIDAL, H. Differences in mRNA expression of the proteins secreted by the adipocytes in human subcutaneous and visceral adipose tissues. **Biochim Biophys Acta**, v. 1500, n. 1, p. 88-96, Jan 2000. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10564721> >.

DUZAGAC, E. et al. Is obesity associated with healing after non-surgical periodontal therapy? A local vs. systemic evaluation. **J Periodontol Res**, v. 51, n. 5, p. 604-12, Oct 2016. ISSN 0022-3484.

DYE, B. et al. Serum antibodies to periodontal pathogens and markers of systemic inflammation. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 12, p. 1189-1199, DEC 2005 2005. ISSN 0303-6979.

DYE, B. A. et al. Trends in oral health status: United States, 1988-1994 and 1999-2004. **Vital Health Stat 11**, n. 248, p. 1-92, Apr 2007. ISSN 0083-1980 (Print) 0083-1980 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17633507> >.

EBERSOLE, J. L. et al. Salivary and serum adiponectin and C-reactive protein levels in acute myocardial infarction related to body mass index and oral health. **J Periodontol Res**, v. 52, n. 3, p. 419-427, Jun 2017. ISSN 0022-3484.

_____. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. **J Periodontal Res**, v. 28, n. 6 Pt 2, p. 543-6, Nov 1993. ISSN 0022-3484 (Print)

0022-3484 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8263728> >.

EKE, P. I. et al. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. **J Dent Res**, v. 91, n. 10, p. 914-20, Oct 2012. ISSN 1544-0591 (Electronic)

0022-0345 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22935673> >.

EM, A. et al. Serum interleukin-17 (IL-17) in chronic periodontitis patients MB, M. India: Padjadjaran Journal of Dentistry 29: 138-142 p. 2017.

ENDO, Y. et al. Experimental periodontitis induces gene expression of proinflammatory cytokines in liver and white adipose tissues in obesity. **J Periodontol**, v. 81, n. 4, p. 520-6, Apr 2010. ISSN 0022-3492.

FENTOĞLU, Ö. et al. Pro-inflammatory cytokine levels in association between periodontal disease and hyperlipidaemia. **J Clin Periodontol**, v. 38, n. 1, p. 8-16, Jan 2011. ISSN 1600-051X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21062339> >.

FERNANDES, L. A. et al. Experimental periodontal disease treatment by subgingival irrigation with tetracycline hydrochloride in rats. **J Appl Oral Sci**, v. 18, n. 6, p. 635-40, Dec 2010. ISSN 1678-7757.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **N Engl J Med**, v. 340, n. 6, p. 448-54, Feb 11 1999. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793.

GAIO, E. J. et al. Effect of obesity on periodontal attachment loss progression: a 5-year population-based prospective study. **J Clin Periodontol**, v. 43, n. 7, p. 557-65, Jul 2016. ISSN 0303-6979.

GALVAO, M. P. et al. Methodological considerations on descriptive studies of induced periodontal diseases in rats. **Pesqui Odontol Bras**, v. 17, n. 1, p. 56-62, Jan-Mar 2003. ISSN 1517-7491 (Print) 1517-7491.

GARLET, G. P. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Re-appraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 12, p. 1349-1363, Dec 2010. ISSN 0022-0345. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000284531100003 >.

GENCO, R. J.; BORGNACKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontol 2000**, v. 62, n. 1, p. 59-94, Jun 2013. ISSN 1600-0757 (Electronic) 0906-6713 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23574464> >.

GENCO, R. J. et al. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. **J Periodontol**, v. 70, n. 7, p. 711-23, Jul 1999. ISSN 0022-3492 (Print) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10440631> >.

GERBER, F. A. et al. Influence of obesity on the outcome of non-surgical periodontal therapy - a systematic review. **BMC Oral Health**, v. 16, n. 1, p. 90, Sep 2 2016. ISSN 1472-6831.

GONCALVES, T. E. et al. Effects of scaling and root planing on clinical response and serum levels of adipocytokines in patients with obesity and chronic periodontitis. **J Periodontol**, v. 86, n. 1, p. 53-61, Jan 2015. ISSN 0022-3492.

_____. Local and serum levels of adipokines in patients with obesity after periodontal therapy: one-year follow-up. **J Clin Periodontol**, v. 42, n. 5, p. 431-9, May 2015. ISSN 0303-6979.

GORMAN, A. et al. Overweight and obesity predict time to periodontal disease progression in men. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 39, n. 2, p. 107-114, Feb 2012. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000299070000001 >.

GRAVES, D. T. The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression. **Clinical Infectious Diseases**, v. 28, n. 3, p. 482-490, Mar 1999. ISSN 1058-4838. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000079110000009 >.

GROSSI, S. G.; GENCO, R. J. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. **Ann Periodontol**, v. 3, n. 1, p. 51-61, Jul 1998. ISSN 1553-0841 (Print) 1553-0841 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9722690> >.

GROSSI, S. G. et al. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. **J Periodontol**, v. 66, n. 1, p. 23-9, Jan 1995. ISSN 0022-3492 (Print) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7891246> >.

_____. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. **J Periodontol**, v. 65, n. 3, p. 260-7, Mar 1994. ISSN 0022-3492 (Print) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8164120> >.

GROVER, A.; JOSHI, A. An overview of chronic disease models: a systematic literature review. **Glob J Health Sci**, v. 7, n. 2, p. 210-27, Oct 2014. ISSN 1916-9736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25716407> >.

GÓRSKA, R. et al. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 30, n. 12, p. 1046-52, Dec 2003. ISSN 0303-6979. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15002890> >.

HAIJSHENGALLIS, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nat Rev Immunol**, v. 15, n. 1, p. 30-44, Jan 2015. ISSN 1474-1741 (Electronic) 1474-1733 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25534621> >.

HAIJSHENGALLIS, G. et al. Complement-Dependent Mechanisms and Interventions in Periodontal Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 10, Mar 12 2019. ISSN 1664-3224. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000461083800002 >.

HAVEL, P. J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. **Diabetes**, v. 53 Suppl 1, p. S143-51, Feb 2004. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14749280> >.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 860-7, Dec 2006. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17167474> >.

IDE, M. et al. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. **J Periodontol**, v. 75, n. 3, p. 420-8, Mar 2004. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15088881> >.

IOANNIDOU, E.; MALEKZADEH, T.; DONGARI-BAGTZOGLU, A. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein levels: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Periodontology**, v. 77, n. 10, p. 1635-1642, Oct 2006. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000241879700003 >.

IWAMOTO, Y. et al. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis. **J Periodontol**, v. 74, n. 8, p. 1231-6, Aug 2003. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14514239> >.

JARAMILLO, A. et al. Association of metabolic syndrome and chronic periodontitis in Colombians. **Clin Oral Investig**, v. 21, n. 5, p. 1537-1544, Jun 2017. ISSN 1432-6981.

JIMENEZ, E. Body composition: Assessment and clinical value. **Endocrinologia Y Nutricion**, v. 60, n. 2, p. 71-77, FEB 2013 2013. ISSN 1575-0922.

KASSEBAUM, N. J. et al. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. **J Dent Res**, v. 93, n. 11, p. 1045-53, Nov 2014. ISSN 1544-0591 (Electronic) 0022-0345 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25261053> >.

KATZ, J. et al. Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. **J Periodontol**, v. 73, n. 5, p. 494-500, May 2002. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12027250> >.

KELLER, A. et al. Association between periodontal disease and overweight and obesity: a systematic review. **J Periodontol**, v. 86, n. 6, p. 766-76, Jun 2015. ISSN 0022-3492.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 6, p. 2548-56, Jun 2004. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15181022> >.

KILKENNY, C. et al. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. **British Journal of Pharmacology**, v. 160, n. 7, p. 1577-1579, Aug 2010. ISSN 0007-1188. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000279616400002 >.

KINANE, D. F. et al. Bacteraemia following periodontal procedures. **J Clin Periodontol**, v. 32, n. 7, p. 708-13, Jul 2005. ISSN 0303-6979. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15966875> >.

KIRZIOGLU, F. Y. et al. Is a Cholesterol-Enriched Diet a Risk Factor for Alveolar Bone Loss? **Journal of Periodontology**, v. 87, n. 5, p. 529-538, May 2016. ISSN 0022-3492. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000375843400009 >.

KLEIN, S. et al. Waist circumference and cardiometabolic risk: A consensus statement from shaping America's health: Association for weight management and obesity prevention; NAASO, The Obesity Society; The American Society for Nutrition; And the American Diabetes Association. **Obesity**, v. 15, n. 5, p. 1061-1067, MAY 2007 2007. ISSN 1930-7381.

KOCHER, T. et al. Risk determinants of periodontal disease--an analysis of the Study of Health in Pomerania (SHIP 0). **J Clin Periodontol**, v. 32, n. 1, p. 59-67, Jan 2005. ISSN 0303-6979 (Print) 0303-6979 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15642060> >.

KOLETSKY, S. Obese spontaneously hypertensive rats--a model for study of atherosclerosis. **Exp Mol Pathol**, v. 19, n. 1, p. 53-60, Aug 1973. ISSN 0014-4800. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4721724> >.

KORHONEN, S. et al. Serum cholesterol ratios and periodontal infection: results of the Health 2000 Survey. **J Clin Periodontol**, v. 38, n. 9, p. 787-94, Sep 2011. ISSN 1600-051X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21770993> >.

KOSE, O. et al. **The effects of obesity on local and circulating levels of tumor necrosis factor-alfa and interleukin-6 in patients with chronic periodontitis.**: Journal of Periodontology and Implant Dentistry. 7: 7-14 p. 2015.

KUMAR, K. R. et al. Assessment of high-sensitivity C-reactive protein and lipid levels in healthy adults and patients with coronary artery disease, with and without periodontitis--a cross-sectional study. **J Periodontal Res**, v. 49, n. 6, p. 836-44, Dec 2014. ISSN 1600-0765. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24620793> >.

KURAJI, R. et al. Effects of experimental periodontitis on the metabolic system in rats with diet-induced obesity (DIO): an analysis of serum biochemical parameters. **Odontology**, v. 106, n. 2, p. 162-170, Apr 2018. ISSN 1618-1247.

LANG, N. P. et al. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. **J Clin Periodontol**, v. 17, n. 10, p. 714-21, Nov 1990. ISSN 0303-6979 (Print) 0303-6979 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2262585> >.

LEAN, M. E.; HAN, T. S.; MORRISON, C. E. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. **BMJ**, v. 311, n. 6998, p. 158-61, Jul 1995. ISSN 0959-8138. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7613427> >.

LI, X. et al. Systemic diseases caused by oral infection. **Clin Microbiol Rev**, v. 13, n. 4, p. 547-58, Oct 2000. ISSN 0893-8512. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11023956> >.

LI, Z. et al. **Correlation of serum adipocytokine levels with glycolipid metabolism and inflammatory factors in obese patients with periodontal disease.**: International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 11: 1620-1628 p. 2018.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M. Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice. **Circulation**, v. 100, n. 11, p. 1148-50, Sep 14 1999. ISSN 0009-7322.

LOOS, B. G. Systemic Markers of Inflammation in Periodontitis. **J Periodontol**, v. 76 Suppl 11S, p. 2106-2115, Nov 2005. ISSN 1943-3670 (Electronic) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29539043> >.

MACRI, E. et al. Atherogenic cholesterol-rich diet and periodontal disease. **Archives of Oral Biology**, v. 59, n. 7, p. 679-686, Jul 2014. ISSN 0003-9969. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000337867600003 >.

MARTINEZ-HERRERA, M. et al. Levels of serum retinol-binding protein 4 before and after non-surgical periodontal treatment in lean and obese subjects: An interventional study. **J Clin Periodontol**, v. 45, n. 3, p. 336-344, 03 2018. ISSN 1600-051X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29150947> >.

MAURY, E.; BRICHARD, S. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 314, n. 1, p. 1-16, JAN 15 2010 2010. ISSN 0303-7207.

MEALEY, B. L. Periodontal disease and diabetes. A two-way street. **J Am Dent Assoc**, v. 137 Suppl, p. 26S-31S, Oct 2006. ISSN 0002-8177. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17012733> >.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-6, Mar 19 2010. ISSN 1097-4172 (Electronic) 0092-8674 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20303867> >.

MERCHANT, A. T. et al. Increased physical activity decreases periodontitis risk in men. **Eur J Epidemiol**, v. 18, n. 9, p. 891-8, 2003. ISSN 0393-2990 (Print) 0393-2990 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14561049> >.

MIESEL, A. et al. Overfeeding-Induced Obesity in Spontaneously Hypertensive Rats: An Animal Model of the Human Metabolic Syndrome. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 56, n. 2, p. 127-142, MAR 2010 2010. ISSN 0250-6807.

MIRANDA, T. S. et al. The ratios of pro-inflammatory to anti-inflammatory cytokines in the serum of chronic periodontitis patients with and without type 2 diabetes and/or smoking habit. **Clin Oral Investig**, v. 23, n. 2, p. 641-650, Feb 2019. ISSN 1436-3771. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29737428> >.

MODÉER, T. et al. Association between obesity and periodontal risk indicators in adolescents. **Int J Pediatr Obes**, v. 6, n. 2-2, p. e264-70, Jun 2011. ISSN 1747-7174. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20707762> >.

MONTEIRO, A. M. et al. Cardiovascular disease parameters in periodontitis. **J Periodontol**, v. 80, n. 3, p. 378-88, Mar 2009. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19254121> >.

MORITA, T. et al. Association Between the Duration of Periodontitis and Increased Cardiometabolic Risk Factors: A 9-Year Cohort Study. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 14, n. 10, p. 475-482, 12 2016. ISSN 1557-8518. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27740886> >.

MOURA-GREC, P. G. et al. Obesity and periodontitis: systematic review and meta-analysis. **Cien Saude Colet**, v. 19, n. 6, p. 1763-72, Jun 2014. ISSN 1413-8123.

MOUTSOPOULOS, N. M.; MADIANOS, P. N. Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1088, p. 251-64, Nov 2006. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17192571> >.

NAKAJIMA, T. et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 45, n. 1, p. 116-122, Feb 2010. ISSN 0022-3484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000273667900016 >.

NASCIMENTO, G. G. et al. Does periodontal treatment have an effect on clinical and immunological parameters of periodontal disease in obese subjects? A systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig**, v. 20, n. 4, p. 639-47, May 2016. ISSN 1432-6981.

_____. Is weight gain associated with the incidence of periodontitis? A systematic review and meta-analysis. **J Clin Periodontol**, v. 42, n. 6, p. 495-505, Jun 2015. ISSN 0303-6979.

NI, J. et al. Influence of periodontitis and scaling and root planing on insulin resistance and hepatic CD36 in obese rats. **J Periodontol**, v. 89, n. 4, p. 476-485, Apr 2018. ISSN 0022-3492.

NOACK, B. et al. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. **J Periodontol**, v. 72, n. 9, p. 1221-7, Sep 2001. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11577954> >.

O'ROURKE, R. W. et al. Alterations in T-cell subset frequency in peripheral blood in obesity. **Obes Surg**, v. 15, n. 10, p. 1463-8, 2005 Nov-Dec 2005. ISSN 0960-8923. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16354528> >.

OPPERMANN, R. V.; WEIDLICH, P.; MUSSKOPF, M. L. Periodontal disease and systemic complications. **Braz Oral Res**, v. 26 Suppl 1, p. 39-47, 2012. ISSN 1807-3107. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23318743> >.

OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nat Rev Immunol**, v. 11, n. 2, p. 85-97, Feb 2011. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21252989> >.

OZ, H. S.; PULEO, D. A. Animal Models for Periodontal Disease. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2011. ISSN 1110-7243. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000289096800001 >.

PAGE, R. C. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. **J Periodontal Res**, v. 26, n. 3 Pt 2, p. 230-42, May 1991. ISSN 0022-3484 (Print) 0022-3484 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1679130> >.

_____. Periodontal diseases: a new paradigm. **J Dent Educ**, v. 62, n. 10, p. 812-21, Oct 1998. ISSN 0022-0337 (Print)
0022-0337 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9847885> >.

PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol 2000**, v. 14, p. 9-11, Jun 1997. ISSN 0906-6713 (Print)
0906-6713 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9567963> >.

PAGE, R. C. et al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. **Periodontol 2000**, v. 14, p. 216-48, Jun 1997. ISSN 0906-6713 (Print)
0906-6713 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9567973> >.

PAPAGEORGIOU, S. N. et al. Effect of overweight/obesity on response to periodontal treatment: systematic review and a meta-analysis. **J Clin Periodontol**, v. 42, n. 3, p. 247-61, Mar 2015. ISSN 1600-051X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25580635> >.

PAPAPANOU, P. N. et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **J Periodontol**, v. 89 Suppl 1, p. S173-S182, Jun 2018. ISSN 1943-3670 (Electronic)
0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29926951> >.

PARASKEVAS, S.; HUIZINGA, J. D.; LOOS, B. G. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. 4, p. 277-90, Apr 2008. ISSN 1600-051X (Electronic)
0303-6979 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18294231> >.

PEARSON, T. A. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 499-511, Jan 28 2003. ISSN 0009-7322.

PERES, M. A. et al. Skin colour is associated with periodontal disease in Brazilian adults: a population-based oral health survey. **J Clin Periodontol**, v. 34, n. 3, p. 196-201, Mar 2007. ISSN 0303-6979 (Print)
0303-6979 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17257159> >.

PERLSTEIN, M. I.; BISSADA, N. F. Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 43, n. 5, p. 707-19, May 1977. ISSN 0030-4220 (Print)
0030-4220.

PETERSEN, P. E. Challenges to improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. **Int Dent J**, v. 54, n. 6 Suppl 1, p. 329-43, Dec 2004. ISSN 0020-6539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15631094> >.

PISCHON, N. et al. Obesity, inflammation, and periodontal disease. **Journal of Dental Research**, v. 86, n. 5, p. 400-409, May 2007. ISSN 0022-0345. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245913700003 >.

PITIPHAT, W. et al. Alcohol consumption increases periodontitis risk. **J Dent Res**, v. 82, n. 7, p. 509-13, Jul 2003. ISSN 0022-0345 (Print) 0022-0345 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12821709> >.

PITIPHAT, W.; SAVETSILP, W.; WARA-ASWAPATI, N. C-reactive protein associated with periodontitis in a Thai population. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 35, n. 2, p. 120-125, FEB 2008 2008. ISSN 0303-6979.

PRADEEP, A. R. et al. Exploring the role of Th1 cytokines: interleukin-17 and interleukin-18 in periodontal health and disease. **J Oral Sci**, v. 51, n. 2, p. 261-6, Jun 2009. ISSN 1880-4926. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19550095> >.

_____. Correlation of MCP-4 and high-sensitivity C-reactive protein as a marker of inflammation in obesity and chronic periodontitis. **Cytokine**, v. 61, n. 3, p. 772-7, Mar 2013. ISSN 1043-4666.

_____. Association of progranulin and high sensitivity CRP concentrations in gingival crevicular fluid and serum in chronic periodontitis subjects with and without obesity. **Dis Markers**, v. 33, n. 4, p. 207-13, 2012. ISSN 1875-8630 (Electronic) 0278-0240 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22960346> >.

RIDKER, P. M. et al. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 391-7, Jan 2003. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12551861> >.

_____. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N Engl J Med**, v. 342, n. 12, p. 836-43, Mar 2000. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10733371> >.

ROSALEM, W. et al. Effect of non-surgical treatment on chronic and aggressive periodontitis: clinical, immunologic, and microbiologic findings. **J Periodontol**, v. 82, n. 7, p. 979-89, Jul 2011. ISSN 1943-3670. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21309718> >.

SAITO, T.; SHIMAZAKI, Y. Metabolic disorders related to obesity and periodontal disease. **Periodontol 2000**, v. 43, p. 254-66, 2007. ISSN 0906-6713 (Print) 0906-6713.

SAITO, T. et al. Relationship between upper body obesity and periodontitis. **J Dent Res**, v. 80, n. 7, p. 1631-6, Jul 2001. ISSN 0022-0345 (Print) 0022-0345.

SALLAY, K. et al. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **J Periodontal Res**, v. 17, n. 3, p. 263-74, May 1982. ISSN 0022-3484 (Print) 0022-3484.

SAMPEY, B. et al. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1109-1117, JUN 2011 2011. ISSN 1930-7381.

SAMPEY, B. P. et al. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1109-1117, Jun 2011. ISSN 1930-7381. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000291021600001 >.

SANYAL, A. J. Past, present and future perspectives in nonalcoholic fatty liver disease. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, Apr 2019. ISSN 1759-5053. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31024089> >.

SAXLIN, T. et al. Association between serum lipid levels and periodontal infection. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. 12, p. 1040-7, Dec 2008. ISSN 0303-6979.

SAÚDE, M. D. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasil 2014.

SEMENKOVICH, C. F. Insulin resistance and atherosclerosis. **J Clin Invest**, v. 116, n. 7, p. 1813-22, Jul 2006. ISSN 0021-9738. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16823479> >.

SEXTON, W. M. et al. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. **J Clin Periodontol**, v. 38, n. 5, p. 434-41, May 2011. ISSN 1600-051X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21480939> >.

SIMCH, R. P.; GAIO, E. J.; ROSING, C. K. Effect of body weight in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. **Acta Odontol Scand**, v. 66, n. 3, p. 130-4, Jun 2008. ISSN 0001-6357.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Periodontal microbial ecology. **Periodontol 2000**, v. 38, p. 135-87, 2005. ISSN 0906-6713 (Print) 0906-6713 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15853940> >.

STATISTICS, U. O. O. N. **Mortality, 2014-based national population projections reference volume, 2016**. 2016.

STEFFENS, J.; MARCANTONIO, R. **Classificação das doenças e condições periodontais e Peri-implantares 2018: guia prático e pontos-chave**. MARCANTONIO, R. Revista de Odontologia da UNESP: 189-197 p. 2018.

SU, Y. et al. Periodontitis as a Novel Contributor of Adipose Tissue Inflammation Promotes Insulin Resistance in a Rat Model. **Journal of Periodontology**, v. 84, n. 11, p. 1617-1626, Nov 2013. ISSN 0022-3492. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000328686100013 >.

SUSIN, C. et al. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. **J Periodontol**, v. 75, n. 7, p. 1033-41, Jul 2004. ISSN 0022-3492 (Print) 0022-3492 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15341364> >.

SUVAN, J. et al. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. **Obes Rev**, v. 12, n. 5, p. e381-404, May 2011. ISSN 1467-7881.

_____. Body mass index as a predictive factor of periodontal therapy outcomes. **J Dent Res**, v. 93, n. 1, p. 49-54, Jan 2014. ISSN 0022-0345.

SVENSSON, A. M.; HELLERSTROM, C.; JANSSON, L. Diet-induced obesity and pancreatic islet blood flow in the rat: a preferential increase in islet blood perfusion persists after withdrawal of the diet and normalization of body weight. **J Endocrinol**, v. 151, n. 3, p. 507-11, Dec 1996. ISSN 0022-0795 (Print) 0022-0795.

TAKAHASHI, K. et al. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. **J Clin Periodontol**, v. 32, n. 4, p. 369-74, Apr 2005. ISSN 0303-6979. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15811054> >.

TAMAKOSHI, K. et al. The metabolic syndrome is associated with elevated circulating C-reactive protein in healthy reference range, a systemic low-grade inflammatory state. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 27, n. 4, p. 443-9, Apr 2003. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12664077> >.

TANAKA, S. et al. Impaired immunity in obesity: suppressed but reversible lymphocyte responsiveness. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 17, n. 11, p. 631-6, Nov 1993. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8281221> >.

THANAKUN, S.; IZUMI, Y. Effect of Periodontitis on Adiponectin, C-Reactive Protein, and Immunoglobulin G Against Porphyromonas gingivalis in Thai People With Overweight or Obese Status. **Journal of Periodontology**, v. 87, n. 5, p. 566-576, May 2016. ISSN 0022-3492. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000375843400013 >.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 6, n. 10, p. 772-83, Oct 2006. ISSN 1474-1733. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16998510> >.

TOMAR, S. L.; ASMA, S. Smoking-Attributable Periodontitis in the United States: Findings From NHANES III. **J Periodontol**, v. 71, n. 5, p. 743-751, May 2000. ISSN 1943-3670 (Electronic) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29537517> >.

TONETTI, M. S.; GREENWELL, H.; KORNMAN, K. S. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. **J Periodontol**, v. 89 Suppl 1, p. S159-S172, Jun 2018. ISSN 1943-3670 (Electronic) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29926952> >.

TORUMTAY, G. et al. Effects of periodontal treatment on inflammation and oxidative stress markers in patients with metabolic syndrome. **J Periodontal Res**, v. 51, n. 4, p. 489-98, Aug 2015. ISSN 1600-0765. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26547140> >.

TULIPANO, G. et al. Characterization of the resistance to the anorectic and endocrine effects of leptin in obesity-prone and obesity-resistant rats fed a high-fat diet. **J Endocrinol**, v. 183, n.

2, p. 289-98, Nov 2004. ISSN 0022-0795. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15531717> >.

VAN DYKE, T. E.; KORNMAN, K. S. Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. **J Periodontol**, v. 79, n. 8 Suppl, p. 1503-7, Aug 2008. ISSN 0022-3492 (Print) 0022-3492 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18673003> >.

VAN DYKE, T. E.; SHEILESH, D. Risk factors for periodontitis. **J Int Acad Periodontol**, v. 7, n. 1, p. 3-7, Jan 2005. ISSN 1466-2094. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15736889> >.

VARADY, K. A. et al. Degree of weight loss required to improve adipokine concentrations and decrease fat cell size in severely obese women. **Metabolism**, v. 58, n. 8, p. 1096-101, Aug 2009. ISSN 1532-8600. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19477470> >.

VARGAS-SANCHEZ, P. K. et al. Agreement, correlation, and kinetics of the alveolar bone-loss measurement methodologies in a ligature-induced periodontitis animal model. **J Appl Oral Sci**, v. 25, n. 5, p. 490-497, 2017 Sep-Oct 2017. ISSN 1678-7765. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29069146> >.

VASCONCELOS, A. C. C. G. et al. Periodontitis causes abnormalities in the liver of rats. **J Periodontol**, v. 90, n. 3, p. 295-305, Mar 2019. ISSN 1943-3670. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30216457> >.

VERZELETTI, G. N. et al. Effect of obesity on alveolar bone loss in experimental periodontitis in Wistar rats. **J Appl Oral Sci**, v. 20, n. 2, p. 218-21, Mar-Apr 2012. ISSN 1678-7757.

VIRTO, L. et al. Obesity and periodontitis: An experimental study to evaluate periodontal and systemic effects of comorbidity. **J Periodontol**, v. 89, n. 2, p. 176-185, Feb 2018. ISSN 0022-3492.

WEINBERG, M. A.; BRAL, M. Laboratory animal models in periodontology. **J Clin Periodontol**, v. 26, n. 6, p. 335-40, Jun 1999. ISSN 0303-6979. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10382571> >.

WHITLOCK, G. et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083-1096, MAR-APR 2009 2009. ISSN 0140-6736.

WHO. **Global datasse on body mass index, 2008**. 2008.

_____. **Obesity and overweight**. Geneva 2016.

_____. **Noncommunicable disease country profiles 2018**. World Health Organization. Geneva: 223 p. 2018.

YU, T. et al. Aberrant Periodontal and Systemic Immune Response of Overweight Rodents to Periodontal Infection. **Biomed Res Int**, v. 2019, p. 9042542, 2019.

ZHENG, C. et al. Local proliferation initiates macrophage accumulation in adipose tissue during obesity. **Cell Death Dis**, v. 7, p. e2167, Mar 2016. ISSN 2041-4889. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27031964> >.

ZHU, J. et al. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. **Am J Cardiol**, v. 85, n. 2, p. 140-6, Jan 2000. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10955367> >.

ZIMMERMANN, G. S. et al. Local and circulating levels of adipocytokines in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis. **J Periodontol**, v. 84, n. 5, p. 624-33, May 2013. ISSN 0022-3492.

ZUCALI, J. R. et al. Effects of human interleukin 1 and human tumor necrosis factor on human T lymphocyte colony formation. **J Clin Invest**, v. 80, n. 3, p. 772-7, Sep 1987. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3497951> >.

ZUZA, E. P. et al. The role of obesity as a modifying factor in patients undergoing non-surgical periodontal therapy. **J Periodontol**, v. 82, n. 5, p. 676-82, May 2011. ISSN 0022-3492.

_____. Lipid profile and high-sensitivity C-reactive protein levels in obese and non-obese subjects undergoing non-surgical periodontal therapy. **J Oral Sci**, v. 58, n. 3, p. 423-30, 2016. ISSN 1343-4934.

_____. Influence of obesity on experimental periodontitis in rats: histopathological, histometric and immunohistochemical study. **Clin Oral Investig**, v. 22, n. 3, p. 1197-1208, Apr 2018. ISSN 1432-6981.

ANEXOS:

Anexo A: Carta aprovação no Sistema de Pesquisas da PUCRS.



SIPESQ

Sistema de Pesquisas da PUCRS

Código SIPESQ: 7863

Porto Alegre, 8 de março de 2017.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa "AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO TRATAMENTO DA PERIODONTITE APICAL E DA DOENÇA PERIODONTAL NOS NÍVEIS SÉRICOS DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS EM RATOS OBESOS E NÃO OBESOS". Este projeto necessita da apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Toda a documentação anexa deve ser idêntica à documentação enviada ao CEUA, juntamente com o Documento Unificado gerado pelo SIPESQ.

Atenciosamente,

Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Anexo B: Carta aprovação no Comitê de Ética no Uso de Animais da PUCRS.



SIPESQ
Sistema de Pesquisas da PUCRS

Código SIPESQ: 7863

Porto Alegre, 21 de março de 2017

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa "AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO TRATAMENTO DA PERIODONTITE APICAL E DA DOENÇA PERIODONTAL NOS NÍVEIS SÉRICOS DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS EM RATOS OBESOS E NÃO OBESOS" coordenado por MAXIMILIANO SCHUNKE GOMES.

Sua investigação, respeitando com detalhe as descrições contidas no projeto e formulários avaliados pela CEUA, está autorizada a partir da presente data.

Informamos que é necessário o encaminhamento de relatório final quando finalizar esta investigação. Adicionalmente, ressaltamos que conforme previsto na Lei no. 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais, é função da CEUA zelar pelo cumprimento dos procedimentos informados, realizando inspeções periódicas nos locais de pesquisa.

Duração do Projeto: 21/03/2017 - 21/09/2017

Nº de Animais	Espécie
162	Rato
Total de Animais: 162	

Atenciosamente,

Comissão de Ética no Uso de Animais(CEUA)
