



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA

REBECA BEZERRA MENDONÇA

EFEITOS DO CONSUMO DE UM AÇÚCAR DE ADIÇÃO SOBRE A EXPRESSÃO DA
ÓXIDO NÍTRICO SINTASE INDUZÍVEL E A REABSORÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR EM
RATOS COM PERIODONTITE ESPONTÂNEA

SÃO LUÍS – MA

2023

REBECA BEZERRA MENDONÇA

**EFEITOS DO CONSUMO DE AÇÚCAR DE ADIÇÃO SOBRE A EXPRESSÃO
DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE INDUZÍVEL E A REABSORÇÃO ÓSSEA
ALVEOLAR EM RATOS COM PERIODONTITE ESPONTÂNEA**

Trabalho de conclusão de curso (TCC)
apresentado ao Curso de Odontologia, da
Universidade Federal do Maranhão, como
pré-requisito para obtenção do grau de
Cirurgiã-Dentista

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Salles
Branco de Almeida

SÃO LUÍS – MA

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Bezerra Mendonça, Rebeca.

EFEITOS DO CONSUMO DE UM AÇÚCAR DE ADIÇÃO SOBRE A EXPRESSÃO DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE INDUZÍVEL E A REABSORÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR EM RATOS COM PERIODONTITE ESPONTÂNEA / Rebeca Bezerra Mendonça. - 2023.

55 p.

Orientador(a): Luciana Salles Branco de Almeida.

Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luis-MA, 2023.

1. Açúcar de Adição. 2. Doenças Periodontais. 3. Inflamação. 4. Reabsorção Óssea Alveolar. I. Salles Branco de Almeida, Luciana. II. Título.

MENDONÇA, RB. Efeitos do consumo de um açúcar de adição sobre a expressão da óxido nítrico sintase induzível e a reabsorção alveolar em ratos com periodontite espontânea. Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

Aprovada em: / /2023

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Luciana Salles Branco de Almeida
(Orientadora)

Prof^a. Dr^a. Ana Regina Oliveira Moreira
(Titular)

Prof^a. Dr^a. Liana Linhares Lima Serra
(Titular)

Prof. Dr. Bruno Braga Benatti
(Suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que, de alguma forma, me ajudaram a chegar até aqui. O caminho não é retilíneo, as curvas às vezes oferecem perigo, e ter alguém com quem se possa contar é essencial para atingir o destino final. Sozinhos não chegamos a lugar algum, e, graças a Deus, tive a sorte de ter muitos com quem pude contar.

AGRADECIMENTOS

Concluir este ciclo me enche de orgulho, e se pudesse voltar atrás, repetiria todos os passos para chegar até aqui, pois nesse momento meu coração está repleto de felicidade. Entretanto, não conseguiria chegar até aqui se não fosse por todas as mãos que se estenderam até mim.

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me garantido força e sabedoria para trilhar cada caminho, pela bondade, e por nunca me deixar desamparada.

Agradeço, com todo o amor do mundo, aos meus pais, Altemar Mendonça e Geovana Bezerra, por nunca medirem esforços por minha formação, e por meu bem-estar, por saber de todos os seus sacrifícios para que, para mim, a vida fosse menos dura, e por saber que independente de qualquer coisa, sempre estarão comigo.

Agradeço à minha família, em especial às minhas tias Geisiane Bezerra e Geivane Bezerra, e às minhas primas Laura Bomfim e Maria Luíza Bonfim, pela amizade, pelos bons momentos, e por me permitirem saber que nos maus momentos, também estaríamos juntas.

Agradeço ao meu amor, e grande companheiro de jornada, Yves Fortes, por ser, de forma tão especial, minha família e meu melhor amigo, por ser calma e agitação, por ser o meu parceiro em todos os momentos, e não medir esforços para me ver sorrir, cada conquista minha tem uma grande participação dele.

Agradeço à minha família de 4 patas, Sven, Deep e Lupita, por terem sido companheiros fiéis e por me presentear todos os dias com o amor puro que somente os animais têm para dar.

Agradeço aos meus vizinhos queridos, que fizeram parte da minha criação, e os quais sempre levarei em meu coração.

Agradeço aos amigos de infância, em especial, Rebeca Milene e Vinícius Mendes, por se fazerem presentes em mais essa fase da minha vida, com o carinho de sempre. Agradeço a André Gonçalves e Raíssa Fortes, por serem companheiros de tantos momentos felizes na minha vida, e por saber que sempre podemos contar uns com os outros. Agradeço a Ítalo Ítalo e Isabella Araújo, pela amizade surpreendente e forte que construímos.

Agradeço à Turma 136, a mais “apocalíptica”, a mais surtada, mas sempre corajosa e forte. Quantos amigos eu levo comigo, quantas coisas vivemos...e em todos os momentos em que nos unimos, mostramos que podemos ir longe. Cada um dos meus colegas de turma fazem parte de quem me tornei, e de quem serei um dia. Espero que possamos compartilhar muitos outros momentos juntos, e comemorar muitas conquistas.

Agradeço aos irmãos que essa turma me deu: Mirtes Maria, Rebeca Carvalho, Pedro Paullo e Caio Pezzino, por tornarem cada dia mais leve, por tantos sorrisos, tantas conversas, por tanto estenderem as mãos, e sempre se fazerem presentes. E, em especial, à Carla Matos, minha dupla, minha parceira do primeiro ao último dia de aula, que sorte tive de encontrá-la e poder tê-la comigo.

Agradeço à minha orientadora, Luciana Salles, por todas as oportunidades, por ter me dado o privilégio de ingressar na iniciação científica ao seu lado, por me ensinar - e incentivar- tanto, e com tanto carinho e cuidado. Agradeço, também, às professoras que compõem a banca de avaliação deste trabalho, Liana Linhares e Ana Regina, pela disponibilidade e por todo o auxílio prestado com tanta dedicação e cortesia.

Agradeço a todo o grupo de pesquisa, que participou com ímpeto da realização deste trabalho, em especial às queridas Maryana Praseres e Valbiana Araújo, grandes parceiras que a vida me apresentou.

Agradeço às professoras Elizabeth Lima e Andrea Lago por terem me dado a chance de fazer parte de seus projetos de extensão e ter vivenciado experiências enriquecedoras, além de sempre terem sido tão carinhosas e atenciosas.

Agradeço à professora Sandra Leite, que me marcou de forma especial com sua generosidade e delicadeza. Agradeço aos professores Darlon Lima e Suellen Linares, nossos nomes de turma, que se fizeram presentes de forma muito querida em nosso percurso. Agradeço também aos professores Letícia Gonçalves, Rosana Casanovas, Luana Cantanhêde, Ana Margarida, Pierre Adriano, Cecília Ribeiro, Gisele Quariguasi, Rubenice, José Ferreira (Deco), Paulo Rabelo, Frederico Fernandes José Bauer, Erick Souza, além de tantos outros que foram importantíssimos, e que tanto, e de forma tão admirável, nos ensinaram, e sempre serão parte de quem nos tornamos.

Agradeço aos funcionários do Curso de Odontologia da UFMA, em especial, Santana Sousa, Danilo Fontenele, Cris, Sr. Pedro Barbosa, Sr. Manuel Nunes Júnior, Marcelo Silveira, dona Alba Machado, por terem sido essenciais diariamente durante esses anos, e por nunca terem nos negado ajuda e simpatia.

O orgulho de concluir minha graduação na Universidade Federal do Maranhão sempre estará presente em mim, assim como a gratidão a todos que me ajudaram a chegar até aqui.

“É preciso que suporte duas ou três larvas se quiser
conhecer as borboletas.”

(O Pequeno Príncipe)

Sumário

1 REFERENCIAL TEÓRICO	10
2 CAPÍTULO I	16
ARTIGO ORIGINAL	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 INTRODUÇÃO	19
2. METODOLOGIA	22
2.1 Animais	22
2.2 Período experimental	22
2.3 Ensaio de reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR) para detecção da iNOS	23
2.4 Avaliação da reabsorção óssea alveolar espontânea por microtomografia computadorizada (micro-CT)	24
2.4.1 Mensuração volumétrica	24
2.4.2 Escaneamento	24
2.5 Análise estatística	25
3 RESULTADOS	26
3.1 Peso e consumo de ração e bebida dos animais	26
3.2 Expressão do RNAm da iNOS no tecido gengival	26
3.3 Avaliação de parâmetros ósseos por micro-CT	27
4 DISCUSSÃO	29
5 CONCLUSÃO	34
AGRADECIMENTOS	35
REFERÊNCIAS	36
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS	43
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA	48
ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ETICA E USO DE ANIMAIS	53
ANEXO C – TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO NA BIBLIOTECA	55

1 REFERENCIAL TEÓRICO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial, caracterizada pela destruição progressiva do aparato de inserção dental, que pode levar à consequente perda do elemento dental (Papapanou & Susin, 2017; Tonetti et al., 2018). Possui como fator etiológico primário a presença de biofilme dental disbiótico, enquanto a resposta imunoinflamatória do hospedeiro é considerada o maior fator responsável pela destruição tecidual, com aumento exacerbado da inflamação nos tecidos periodontais em resposta ao desafio microbiano (Di Benedetto et al., 2013; Cekici et al., 2014; Buduneli, 2020).

No contexto da etiopatogenia das doenças periodontais, a presença crônica do biofilme dental leva ao início da inflamação gengival, caracterizando o estágio de gengivite. A periodontite, por sua vez, é um estágio mais avançado de doença periodontal, e seu início e progressão dependem da disbiose no biofilme dental, que pode ocorrer em resposta a produtos da inflamação gengival e da degradação tecidual funcionando em uma relação de *feedback* positivo, na qual tanto a disbiose poderia promover maiores níveis de inflamação periodontal, como uma intensa inflamação local poderia oferecer um ambiente favorável para o estabelecimento de uma microbiota alterada (Lamont et al., 2018; Tonetti et al., 2018).

Nas interações microrganismos-hospedeiro, os produtos bacterianos estimulam uma reação inflamatória local e a ativação do sistema imune inato por meio do reconhecimento de componentes microbianos pelas células hospedeiras. A ativação dessas células leva à liberação de substâncias pró-inflamatórias e ao recrutamento de fagócitos, linfócitos e produção de anticorpos (Garlet, 2010; Cekici et al., 2014; Buduneli, 2020).

A ativação da resposta imuno-inflamatória nos tecidos periodontais deve ser considerada como um mecanismo de defesa fisiológica contra o desafio microbiano, a partir da expressão de citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF), a interleucina (IL)-1 β e a IL-6, as quais iniciam uma cascata de eventos e desencadeiam a produção de mediadores pró-inflamatórios nos tecidos periodontais, como a prostaglandina E2 (PGE₂), as metaloproteinases de matriz (MMP) e o óxido nítrico (NO) (Kirkwood et al., 2007; Di Benedetto et al., 2013; Buduneli, 2020). Entretanto, em níveis aumentados, esses mediadores interferem direta ou indiretamente no processo

de reabsorção óssea alveolar, exercendo influência sobre eventos da osteoclastogênese, promovendo a indução da atividade, viabilidade e diferenciação dos osteoclastos (Cekici et al., 2014; Wang et al., 2019), o que pode resultar na perda de inserção periodontal e consequente perda do elemento dental.

Dentre os mediadores, destaca-se o óxido nítrico (NO), um gás de radical livre sintetizado endogenamente a partir da L-arginina por uma família de enzimas denominadas NO sintases (NOS). Dentre essas, encontra-se a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), que pode ser estimulada por estresse oxidativo, e contribui de forma significativa com a destruição tecidual na periodontite a partir da regulação da ação de citocinas pró-inflamatórias (Lappin et al., 2000, Wang et al., 2019).

Tem sido demonstrado que a expressão gênica e os níveis de produção da iNOS apresentam-se aumentados com a progressão da doença em modelos animais de periodontite induzida (Wang et al., 2019). Lappin et al (2000) avaliaram biópsias de pacientes com periodontite e demonstrou que, em comparação com tecidos saudáveis, as amostras de tecido com periodontite apresentaram maiores níveis de expressão gênica de iNOS. O trabalho de Jung et al (2013) também demonstrou maior expressão de iNOS em tecidos gengivais de pacientes periodontais em comparação a pacientes saudáveis. Além disso, um estudo em modelo animal de periodontite induzida demonstrou que, após 8 dias de indução da doença, houve um aumento acentuado no número de células inflamatórias imunorreativas a iNOS, e que a utilização de um agente inibidor de iNOS promoveu redução da inflamação a curto prazo (Lohinai et al., 2009). Sun et al (2020) também observaram aumento na expressão gênica de iNOS em tecido gengival de ratos com periodontite em comparação a animais saudáveis.

A iNOS apresenta expressão aumentada na presença de estímulos pró-inflamatórios, produzindo grandes quantidades de NO por um período prolongado (Borkar et. al., 2016). Altos níveis de NO desempenham papel na imunidade inespecífica, e os componentes das paredes de bactérias Gram-Negativas atingidas por esse mediador podem desencadear um ciclo de *feedback* positivo, pelo qual induzem maior produção de NO (Hussain et al., 2015), podendo gerar citotoxicidade celular quando em concentração elevada (Menaka et al., 2009).

Tal produção excessiva promove maior vasodilatação local, e estímulo do aumento do infiltrado inflamatório, contribuindo diretamente com o processo de reabsorção óssea alveolar por meio da ativação da atividade osteoclástica (Lappin et al., 2000;

Kirkwood et al., 2007; Cochran, 2008; Hussain et al., 2016, Sun et al., 2020). Isso se dá pois o NO está diretamente envolvido na modulação da indução de MMP-1, e a produção dessa enzima por células de revestimento ósseo ou osteoblastos promove fragmentos de degradação do colágeno nas superfícies ósseas e ativação dos osteoclastos para a degradação óssea (Murrel et al., 1995; Lin et al., 2009). Dessa forma, a maior expressão ou os maiores níveis de iNOS e, conseqüentemente, de NO está relacionada com o aumento da perda óssea alveolar.

De modo interessante, tendo em vista a natureza multifatorial da doença, fatores ambientais e adquiridos (sistêmicos e locais) podem exercer influência sobre essa resposta imunoinflamatória do indivíduo, contribuindo com o aumento da suscetibilidade à evolução da doença (Genco e Borgnake, 2013). Nesse contexto, a dieta tem sido considerada um fator modificador que influi em tal processo, principalmente no que se refere à baixa ingestão de micronutrientes e à ingestão excessiva de carboidratos simples (Hujoel et al., 2017), embora os mecanismos biológicos relacionados ainda não estejam tão claros.

Estudos epidemiológicos demonstraram associações entre a ingestão contínua de açúcares de adição (AA) que possuem amplo uso como adoçante pela indústria (Zhang et al., 2017), e alterações relacionadas à homeostase, distúrbios metabólicos, e indução de resposta hiperinflamatória sistêmica, aumentando os riscos de desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis (DCNTs) (Stanhope, 2016; Nazir, 2017).

No contexto da periodontia, tem sido sugerido, por estudos epidemiológicos, que um maior consumo de AA esteja associado à maior extensão da periodontite, pois foram encontradas alterações de parâmetros clínicos periodontais, como maior índice de sangramento gengival à sondagem, e maior número de sítios com profundidade de sondagem acima de 3mm em pacientes que consumiam AA com maior frequência (Lula et al., 2014; Carmo et al., 2018; Moreira et al., 2020). Dessa forma, tendo em vista que a periodontite é considerada a sexta condição crônica mais frequente no mundo (BRASIL, 2022), é necessário o maior entendimento acerca da influência dos AA sobre parâmetros importantes da resposta imunoinflamatória do hospedeiro.

Os AA são todos os açúcares adicionados durante o processamento de alimentos e elaboração de bebidas, como bolo, pão, refrigerantes e geleias (Cleveland et al., 1997; WHO, 2015). Dentre os tipos de AA mais utilizados incluem-se: açúcar branco, açúcar mascavo, açúcar confeiteiro, dextrose, açúcar invertido, xarope de milho,

xarope de milho com alto teor de frutose, xarope de malte, néctares, xarope de bordo e dextrose anidra (USDA, 2010; Marshall, 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a ingestão de AA não deve ultrapassar 50 gramas diários (cerca de 12 colheres de chá), entretanto, o consumo excessivo dos AA tem sido considerado uma epidemia global, e suas taxas variam de acordo com os países. Em países como Reino Unido e Espanha, o consumo varia de 16-17% acima do recomendado (WHO, 2015), já no Brasil, o consumo individual diário representa cerca de 18 colheres de chá de açúcar (por volta de 80 g de açúcar por dia). Assim, os brasileiros apresentam uma taxa de ingestão de AA aproximadamente 50% acima do recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (BRASIL, 2018).

Estudos em modelo animal têm relatado efeitos inflamatórios associados ao consumo de AA. Tem sido demonstrado que o consumo crônico de xarope de milho rico em frutose (HFCS), um dos açúcares de adição mais utilizados no mundo, promoveu aumento da inflamação em tecidos primários como o hipocampo (Cigliano et al., 2018) e os rins (Korkmaz et al., 2019), além do aumento da expressão gênica da iNOS em tecido hepático, seguido de esteatose hepática e aumento do infiltrado inflamatório (Kanuri et al., 2011), e aortas de ratos (C. Babacanoglu et al., 2013).

Em modelos animais de periodontite, o elevado consumo de carboidratos (sacarose/amido) tem sido associado a aumento no grau de perda óssea alveolar em camundongos com periodontite espontânea (ocorrida naturalmente) (Garant & Cho, 1979; Morimoto et al., 2019). Além disso, foram encontradas alterações em parâmetros histológicos, como maior infiltração de linfócitos e maiores níveis de IL-1 β , IL-6 e IL-11 e estruturas pro-inflamatórias do fator de necrose tumoral- α , no músculo masseter e tecido gengival de ratos com periodontite espontânea (Ekici et al., 2021), sugerindo influência de tal consumo na progressão da doença.

Neste trabalho, os animais foram expostos, diariamente, à glucose de milho, um AA produzido a partir da hidrólise parcial do amido de milho. Ao final do processo de hidrólise, há um produto composto por alguns tipos de açúcar, sendo a glucose predominante, entretanto, polissacarídeos e oligossacarídeos também podem ser encontrados. Dentre esses, a dextrina apresenta papel importante para a obtenção da textura de xarope devido à sua cristalização incompleta. A glucose de milho (também conhecido como xarope de milho) é amplamente utilizada na indústria alimentícia para promover aumento da viscosidade e brilho, além de transformar a textura dos

alimentos, tornando-os mais cremosos por evitar a cristalização do açúcar quando submetido a maiores temperaturas (Tateo, 1982; Camargo et al., 1989). Sabe-se que altos níveis de glicose estão relacionados a exacerbação da resposta inflamatória a partir da ativação de macrófagos e indução da liberação de citocinas inflamatórias (Dasu et al., 2008; Jafar et al., 2016). Dessa forma, a avaliação dos efeitos desse açúcar rico em glicose no contexto da periodontite torna-se pertinente. Entretanto, ainda não existem trabalhos avaliando os efeitos da glucose de milho sobre os marcadores inflamatórios nos tecidos periodontais.

Estudos em modelos animais de periodontite são considerados de grande importância para a avaliação mecanismos fisiológicos e patológicos relacionados às doenças periodontais, incluindo avaliações das respostas do hospedeiro e do possível impacto da dieta (Struillou *et al.*, 2010). Dessa forma, contribuem para a investigação de mecanismos biológicos que possam explicar a associação entre o consumo de AA e periodontite observada em humanos. Ademais, foi demonstrado que molares de ratos possuem anatomia semelhante a molares humanos (Maki, 1990; Branch-Mays *et al.*, 2008). Nesse contexto, o modelo de periodontite espontânea vem sendo amplamente utilizado em estudos para avaliação dos efeitos do consumo de bebidas a longo prazo (Oballe et al., 2018; Wagner et al., 2019; Ekici et al., 2021), por promover um modelo de inflamação equivalente ao modelo de inflamação crônica encontrado em humanos, sendo pertinente para uma melhor investigação acerca dos efeitos do consumo de bebidas ricas em açúcar sobre a patogênese da periodontite.

O maior entendimento da influência dos AA sobre a expressão gênica de marcadores da inflamação nas estruturas periodontais pode contribuir para um melhor entendimento da influência desse fator nutricional sobre fatores essenciais da etiopatogenia das doenças periodontais, como a resposta imunoinflamatória do hospedeiro, trazendo novas perspectivas acerca de intervenções futuras nos pacientes com foco na orientação dietética e controle da inflamação local. A avaliação da expressão de genes em resposta à ação de estressores sobre o sistema biológico possibilita a predição do dano antes mesmo da ocorrência do dano funcional (Zhou et al., 2009). Assim, a alteração em nível transcricional (RNAm) de mediadores inflamatórios-chave na periodontite pode funcionar como marcador precoce da resposta inflamatória, além de indicar possíveis mecanismos biológicos relacionados à associação entre consumo de AA e doenças periodontais observada nos estudos epidemiológicos.

Ainda não existem estudos avaliando a influência da ingestão da glucose de milho, um AA, sobre a expressão gênica da iNOS no tecido gengival ou sobre parâmetros tridimensionais relacionados à reabsorção óssea alveolar, em modelo animal de periodontite espontânea, o que torna este um estudo pioneiro nessas avaliações.

2 CAPÍTULO I

ARTIGO ORIGINAL

EFEITOS DO CONSUMO DE UM AÇÚCAR DE ADIÇÃO SOBRE A EXPRESSÃO DA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE INDUZÍVEL E A REABSORÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR EM RATOS COM PERIODONTITE ESPONTÂNEA

Effects of the consumption of an added sugar on the inducible nitric oxide synthase expression and alveolar bone resorption in rats with spontaneous periodontitis

Rebeca Bezerra Mendonça¹

Luciana Salles Branco-de-Almeida²

¹ Acadêmica do Curso de Odontologia da UFMA

² Professora Doutora do Departamento de Odontologia II da UFMA

Autor de correspondência:

Luciana Salles Branco de Almeida

Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Av. dos Portugueses, s/n, Campus Universitário Dom Delgado.

Bacanga – São Luís – Maranhão, Brasil.

CEP: 65085-580

Tel: (98) 8204-8080

Email: luciana.salles@ufma.br

RESUMO

Introdução: Um aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias após o consumo contínuo de açúcares de adição (AA) tem sido demonstrado em modelos animais de periodontite. Entretanto, o efeito desse consumo sobre outros marcadores inflamatórios relacionados à reabsorção óssea alveolar na periodontite, como a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), permanece desconhecido. **Objetivo:** Avaliar os efeitos do consumo diário de um AA largamente utilizado na população humana sobre a expressão gênica da iNOS e sobre parâmetros tridimensionais no osso alveolar em ratos com periodontite espontânea. **Metodologia:** Ratos Wistar, machos, foram acondicionados em gaiolas individuais e divididos, aleatoriamente, em dois grupos (n=8 animais/grupo): 1) Grupo AA: animais que receberam ração comercial e bebida contendo um AA (glucose de milho a 30%); 2) Grupo Controle: animais que receberam ração comercial e água filtrada (placebo). As bebidas foram disponibilizadas em bebedouro, *ad libitum*. Após 9 semanas, os animais foram eutanasiados, e os tecidos gengivais em torno dos molares inferiores direitos foram coletados para as avaliações subsequentes de expressão gênica por meio da RT-qPCR. As hemimandíbulas direitas foram coletadas para avaliação de parâmetros ósseos tridimensionais utilizando-se tomografia microcomputadorizada (micro-CT). Para a análise estatística, adotaram-se os testes t de Student ou de Mann-Whitney, considerando-se nível de significância de 5%. **Resultados:** A expressão do RNAm do gene iNOS foi significativamente maior nos tecidos gengivais dos animais do grupo AA em relação aos animais do grupo controle ($p < 0,05$). As análises microtomográficas revelaram que o grupo AA apresentou maior fator de padrão trabecular em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$). **Conclusão:** O consumo crônico de AA aumentou a expressão da iNOS no tecido gengival e promoveu aumento do fator de padrão trabecular ósseo nas hemimandíbulas de ratos com periodontite espontânea,

Palavras-chave: Doenças Periodontais. Açúcar de Adição. Inflamação. Reabsorção Óssea Alveolar.

ABSTRACT

Introduction: An increase in the expression of pro-inflammatory cytokines after continuous consumption of added sugars (AA) has been demonstrated in animal models of periodontitis. However, the effect of this consumption on other inflammatory markers related to alveolar bone resorption in periodontitis, such as the enzyme inducible nitric oxide synthase (iNOS), remains unknown. **Objective:** To evaluate the effects of daily consumption of an AA widely used in the human population on iNOS gene expression and on three-dimensional parameters in alveolar bone in rats with spontaneous periodontitis. **Methodology:** Male Wistar rats were placed in individual cages and randomly divided into two groups (n=8 animals/group): 1) AA Group: animals that received commercial feed and drink containing an AA (30% corn glucose); 2) Control Group: animals that received commercial feed and filtered water (placebo). Drinks were available in a drinking fountain, ad libitum. After 9 weeks, the animals were euthanized, and the gingival tissues around the lower right molars were collected for subsequent gene expression evaluations by means of RT-qPCR. The right hemimandibles were collected for evaluation of three-dimensional bone parameters using microcomputed tomography (micro-CT). For statistical analysis, Student's t test or Mann-Whitney test were adopted, considering a significance level of 5%. **Results:** The mRNA expression of the iNOS gene was significantly higher in the gingival tissues of animals in the AA group compared to animals in the control group ($p < 0,05$). Microtomographic analyzes revealed that the AA group had a higher trabecular pattern factor compared to the control group ($p < 0,05$). **Conclusion:** The chronic consumption of AA increased the expression of iNOS in the gingival tissue and promoted an increase in the bone trabecular pattern factor in the hemimandibles of rats with spontaneous periodontitis, indicating a possible impact about local inflammation and initial signs of structural changes in the alveolar bone.

Keywords: Periodontal Diseases. Added Sugar. Inflammation. Alveolar Bone Resorption.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial caracterizada por inflamação e destruição progressiva do aparato de inserção dental, podendo levar à perda do elemento dental (Tonetti et al., 2018). O biofilme dental disbiótico é considerado seu fator etiológico primário, enquanto que a ativação da resposta imunoinflamatória do hospedeiro frente ao desafio microbiano é a maior responsável pela progressão da doença, devido à liberação local de citocinas e outros mediadores pró-inflamatórios, após a ativação do sistema imune inato, como resposta aos produtos/componentes bacterianos (Garlet; 2010; Cekici et al., 2014; Buduneli, 2020).

No contexto da resposta imunoinflamatória do hospedeiro ativada, ocorre o aumento da produção/expressão de marcadores inflamatórios nos tecidos periodontais. Dentre esses, destaca-se o óxido nítrico (NO), produzido a partir da L-arginina pela ação da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Lappin et al., 2000). Esses marcadores influenciam o processo de osteoclastogênese direta ou indiretamente, levando à reabsorção óssea alveolar, por promoverem a indução da atividade, viabilidade e diferenciação dos osteoclastos (Cekici et al., 2014; Wang et al., 2019; Sun et al., 2020).

A iNOS é produzida abundantemente por células inflamatórias, como macrófagos (Teng; 2006), com concentração determinada pela extensão dos tecidos inflamados e estimulação bacteriana. Tem sido demonstrado que sua expressão gênica e produção são aumentadas significativamente quando as células imunológicas são ativadas por estímulo externo com a progressão da periodontite (Lappin, 2000; Reeves et al., 2008; Lohinai et al., 2009; Jung et al., 2012; Wang et al., 2019; Sun et al., 2020), tendo sido reconhecida como uma importante molécula sinalizadora no processo saúde-doença, e promovendo maior produção de óxido nítrico no tecido gengival (Lin et al., 2009; Wang et al., 2019).

As evidências atuais apoiam as influências multifatoriais da doença na modulação das respostas imunoinflamatórias, aumentando a suscetibilidade de alguns indivíduos e podendo exercer influência sobre a gravidade da doença para esses indivíduos (Tonetti et al., 2018). Nesse contexto, a dieta tem sido sugerida como um possível fator modificador da doença, tendo sido sugerida uma relação entre a ingestão excessiva de açúcares de adição (AA) e doenças periodontais (Moreira et al., 2020).

Os AA são todos os açúcares adicionados durante o processamento de alimentos e elaboração de bebidas (Cleveland *et al.*, 1997; WHO, 2015). Dentre os tipos de AA mais utilizados incluem-se: açúcar branco, açúcar mascavo, açúcar confeito, dextrose, açúcar invertido, xarope de milho/glucose de milho, xarope de milho com alto teor de frutose, xarope de malte, néctares, xarope de bordo e dextrose anidra (Dri & Iom, 2002; Usda, 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a ingestão de um AA não deve ultrapassar 50 gramas diários, entretanto, o consumo dos açúcares de adição é considerado uma epidemia global, devido às taxas de consumo acima do recomendado em diversos países, e, no Brasil, essa taxa está aproximadamente 50% acima do que recomenda a OMS, equivalendo à ingestão de 80 gramas diários (WHO, 2015; BRASIL, 2018).

O elevado consumo de AA vem sendo associado à inflamação tecidual, demonstrando alterações em parâmetros clínicos periodontais, como maior índice de sangramento gengival à sondagem, e maior número de sítios com profundidade de sondagem acima de 3mm (Lula *et al.*, 2014; Carmo *et al.*, 2018; Moreira *et al.*, 2020), sugerindo influência de tal consumo no processo de progressão da doença. Já em modelo animal, observou-se que o elevado consumo de carboidratos (sacarose/amido) tem sido associado a aumento no grau de perda óssea alveolar em camundongos com periodontite espontânea (ocorrida naturalmente) (Garant & Cho, 1979; Morimoto *et al.*, 2019), e tal efeito parece estar relacionado a mudanças na resposta imunoinflamatória (Morimoto *et al.*, 2019). Em outro trabalho foi observado que a ingestão de um AA, por 8 semanas, aumentou a expressão de IL-6, IL-1 β e estruturas pro-inflamatórias no tecido gengival de ratos, além de maior infiltração de linfócitos, e supressão de enzimas antioxidantes (Ekici *et al.*, 2021).

Dentre os AA mais utilizados pela indústria alimentícia, tem-se a glucose de milho, um açúcar de adição produzido a partir da hidrólise do amido de milho, e composto principalmente de glicose (Tateo, 1982; Camargo *et al.*, 1989). Sabe-se que altos níveis de glicose estão relacionados a exacerbação da resposta inflamatória a partir da ativação de macrófagos e indução da liberação de citocinas inflamatórias (Dasu *et al.*, 2008; Jafar *et al.*, 2016), dessa forma, a avaliação dos efeitos desse açúcar rico em glicose no contexto da periodontite torna-se pertinente. Entretanto, ainda não existem trabalhos avaliando os efeitos da glucose de milho sobre os marcadores inflamatórios nos tecidos periodontais.

Nesse sentido, a avaliação da expressão gênica em resposta à ação de estressores sobre o sistema biológico possibilita a predição da toxicidade antes mesmo da ocorrência do dano funcional (Zhou et al., 2009). Contudo, o impacto do consumo crônico dos AA sobre a expressão gênica de iNOS no tecido gengival permanece desconhecido.

Assim, este estudo é precursor na avaliação dos possíveis efeitos do consumo crônico da glucose de milho sobre a expressão gênica da iNOS no tecido gengival e sobre parâmetros ósseos relacionados à reabsorção óssea alveolar em ratos com periodontite espontânea, visando a uma investigação mais direta de mecanismos associados aos efeitos do consumo de AA no periodonto e no processo de progressão da periodontite.

2. METODOLOGIA

2.1. Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) com 1 mês de idade, provenientes do biotério do Centro Universitário do Maranhão (UNICEUMA). Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais e receberam uma ração comercial padronizada (Nuvilab, Brasil) e água ou bebida contendo glucose de milho *ad libitum* durante o período em que estiveram acondicionados no biotério. A temperatura da sala foi mantida a 22 °C, sob ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 horas. A manipulação dos animais seguiu as recomendações e diretrizes do ARRIVE (*Animals in Research: Reporting In Vivo Experiments*) (Kilkenny et al., 2012). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais local (protocolo número 30/19).

2.2. Período Experimental

Para avaliação dos efeitos do consumo da glucose de milho sobre o periodonto dos animais sujeitos ao desenvolvimento da periodontite espontânea (Oballe et al., 2014), foram utilizados 16 animais, distribuídos em gaiolas individuais. Após o período de adaptação de uma semana, os mesmos foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos (n=8 animais/grupo): 1) Grupo Controle: realizou consumo diário de água filtrada (placebo), disponível em bebedouro; 2) Grupo AA: realizou consumo de bebida contendo glucose de milho (Arcolor, Brasil) a 30% em bebedouro. A solução foi preparada utilizando-se 30 g do produto comercial dissolvido em 100 mL de água, tendo sido administrada, por 24 horas diárias (Kanuri et al., 2011), em bebedouro.

Após 9 semanas de período experimental (Kovacevic et al., 2017) (Figura 1), os animais foram eutanasiados por indução de anestesia profunda, e os tecidos gengivais em torno dos molares inferiores direitos foram coletados e armazenados em RNAlater (Sigma®), a -80 °C, até as avaliações subsequentes de análise de expressão gênica. As hemimandíbulas direitas foram armazenadas em formaldeído 10% para posterior avaliação da reabsorção óssea alveolar por tomografia micro-computadorizada.

A organização cronológica do período experimental está expressa na Figura 1. O

peso e o consumo de ração/bebida foram aferidos semanalmente.

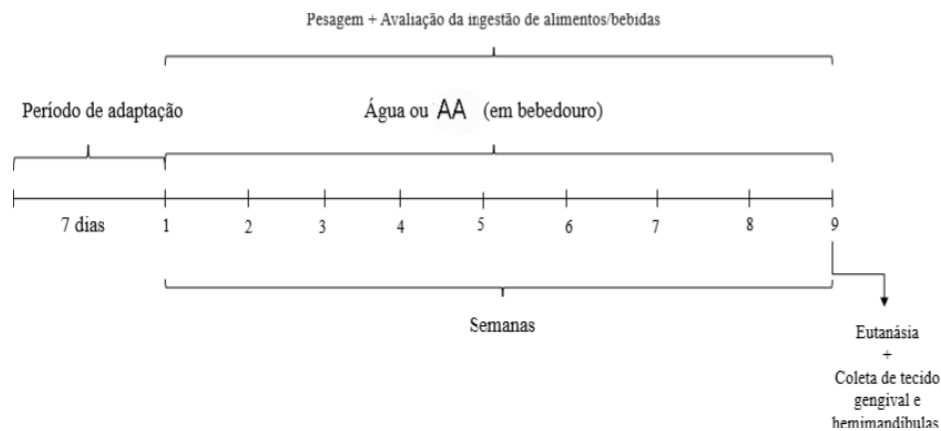


Figura 1. Organização cronológica e período experimental utilizados no estudo.

2.3. Ensaio de reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR) para detecção da iNOS

Os tecidos gengivais coletados foram submetidos à extração do RNAm total utilizando-se o Kit RNAeasy (Qiagen) e um extrator automático (Tissue Lyser LT, Qiagen). O RNA foi quantificado em espectrofotômetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific™). Para a avaliação da expressão gênica do RNAm de iNOS no tecido gengival, foi utilizada a técnica de RT-qPCR. Para tanto, as amostras foram tratadas com DNase e, depois, levadas à transcriptase reversa usando-se 200 U de Superscript II para se obter o cDNA. Os ensaios de RT-qPCR foram realizados em placas de 96 poços utilizando DNA em fita dupla no QuantStudio™ flex em tempo real.

As sequências dos primers e seus comprimentos, utilizadas para amplificação do RNAm dos genes iNOS e GAPDH (controle interno), foram (Branco-de-Almeida et al., 2012): iNOS, sense 5'-ACAACAGGAACCTACCAGCTCA-3' e antisense 5'-GATGTTGTAGCGCTGTGTGTCA-3', 651 bp; GAPDH, sense 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3', antisense 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3', 450 bp. Todas as amostras foram analisadas em duplicata. Os níveis de expressão foram calculados pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Schmittgen e Livak., 2008).

2.4. Avaliação de parâmetros ósseos tridimensionais por tomografia micro-computadorizada (micro-CT)

Para a avaliação do possível impacto do AA utilizado na reabsorção óssea alveolar nos animais, foram avaliados parâmetros ósseos tridimensionais utilizando-se a micro-CT (Liu et al., 2010; Becker et al., 2018). Foram realizadas as etapas de escaneamento e mensuração volumétrica.

2.4.1. Escaneamento

Esta avaliação foi realizada em parceria com o Laboratório de Radiologia da Universidade Estadual do Estado do Rio de Janeiro. As hemimandíbulas foram escaneadas no microtomógrafo SkyScan 1173 (Bruker Micro-CT, Kontich) com os seguintes parâmetros de aquisição: 114 mA e 70Kv, com filtro de alumínio 1-mm de espessura, tempo de exposição de 320 milissegundos, passo de rotação de 0.4°, 360° em torno do eixo vertical e matriz de 1120x1120. A resolução isotrópica foi de 17.25 µm. As imagens foram reconstruídas utilizando-se o software NRecon (v1.6.1.0; Bruker, Kontich) com os seguintes parâmetros de reconstrução: 1 de correção do artefato de anel, uma correção de endurecimento do feixe de 35% e suavização de 4 para todas as imagens.

2.4.2. Mensuração volumétrica/ tridimensional (3D)

As mensurações volumétricas foram realizadas no programa CTAn (Bruker, micro-CT) na vista axial. Inicialmente, para permitir o reconhecimento do osso alveolar, as imagens foram avaliadas em uma escala de cinza por meio de um histograma de densidade para obter uma imagem de pixels pretos/brancos apenas. As comparações entre a imagem original e segmentada foram realizadas para garantir a precisão da segmentação, e um histograma de densidade entre 75-255 foi usado para selecionar o osso alveolar. Na mensuração 3D, uma área de cada hemimandíbula foi selecionada para avaliação dos parâmetros volumétricos. Para cada hemimandíbula, a região de interesse (ROI) foi padronizada e definida pelos seguintes pontos: ápice da raiz mesial

do primeiro molar (limite apical); área de furca do primeiro molar (limite coronário); raiz mesial do primeiro molar (limite anterior) e raiz distal do terceiro molar (limite posterior), conforme descrito anteriormente (Park et al. 2007; Anbinder et al. 2016; Borkar et al. 2016).

Para consistência entre as medidas, as corticais externas e as raízes foram excluídas. Os contornos da ROI foram realizados em intervalos regulares (a cada 5 slices), ou em intervalos menores dependendo da variabilidade entre os slices (Park et al. 2007). Em seguida, através do plugin 3D analysis, o volume ósseo foi obtido. O programa CTvol (v1.6.6.0, Bruker Micro-CT, Kontich) foi utilizado para reconstrução tridimensional dos modelos para visualizar a perda óssea. Foram avaliados os seguintes parâmetros: razão superfície óssea/volume ósseo, porcentagem de volume ósseo, número de trabéculas ósseas, espessura trabecular, separação trabecular e fator de padrão trabecular.

2.5. Análises estatísticas

Foi utilizado o teste t de Student nas comparações entre os dois grupos, considerando-se nível de significância de 5%. Foi utilizado o programa GraphPad Prism, versão 10.0 (2023) (GraphPad Software Inc., San Diego, United States).

3. RESULTADOS

3.1. Peso e consumo de bebida e ração

Não houve diferenças significativas no peso entre os animais dos grupos controle e AA durante todo o período experimental ($P>0,05$). Quanto ao consumo diário de bebida e ração, ambos foram menores no grupo AA do que no grupo controle ($P<0,05$, Figura 2).

Os resultados estão expressos na Figura 2.

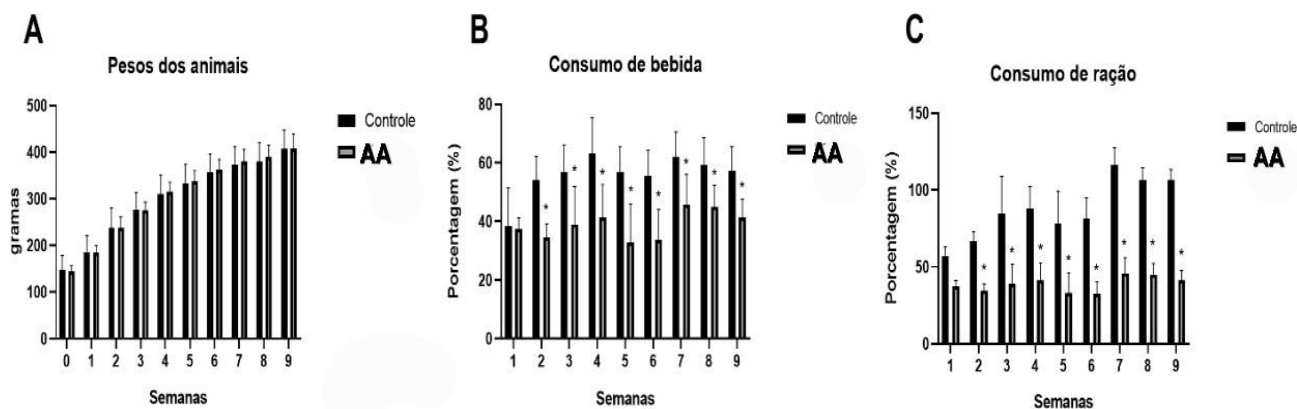


Figura 2. Análise comparativa entre os grupos experimentais durante o período experimental para as variáveis peso (A), consumo diário de bebida (B) e ração (C). * $P<0,05$, de acordo com o teste *t* de Student.

3.2. Expressão do RNAm da iNOS no tecido gengival

A expressão do RNAm do gene iNOS foi significativamente maior nos tecidos gengivais dos animais do grupo AA em relação aos animais do grupo controle ($P<0,05$, Figura 3).

Os resultados estão expressos na Figura 3.

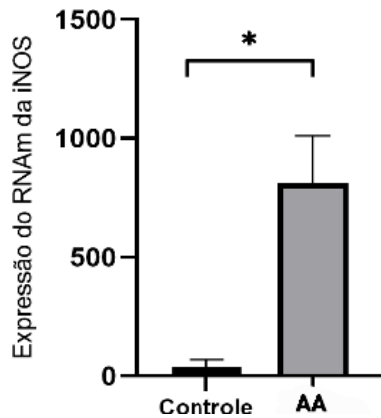


Figura 3. Análise comparativa da expressão do RNAm do gene iNOS no tecido gengival dos animais dos grupos controle e AA. * $P < 0.05$, de acordo com o teste t de Student.

3.3. Avaliação de parâmetros ósseos por micro-CT

As análises microtomográficas revelaram que o grupo AA apresentou fator de padrão trabecular significativamente maior em comparação ao grupo controle ($P < 0.05$, Figura 5F). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na comparação para os demais parâmetros ($P > 0,05$; Figura 5A-E).

As imagens representativas das hemimandíbulas de ambos os grupos, e a ROI utilizada para selecionar a área de análise, estão expressas na Figura 4. Os resultados estão expressos na Figura 5.

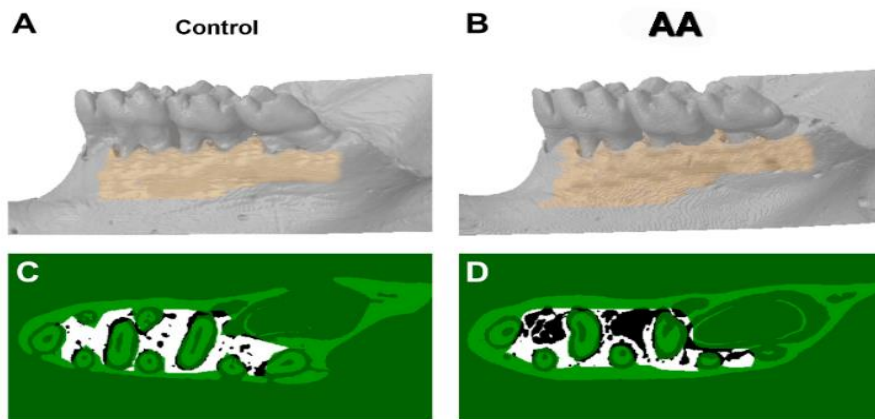


Figura 4. Hemimandíbulas direitas do Grupo Controle (A) e AA (B). Áreas de interesse para medição volumétrica (ROI) geradas pela análise de micro-CT 3D do Grupo Controle (C) e AA (D).

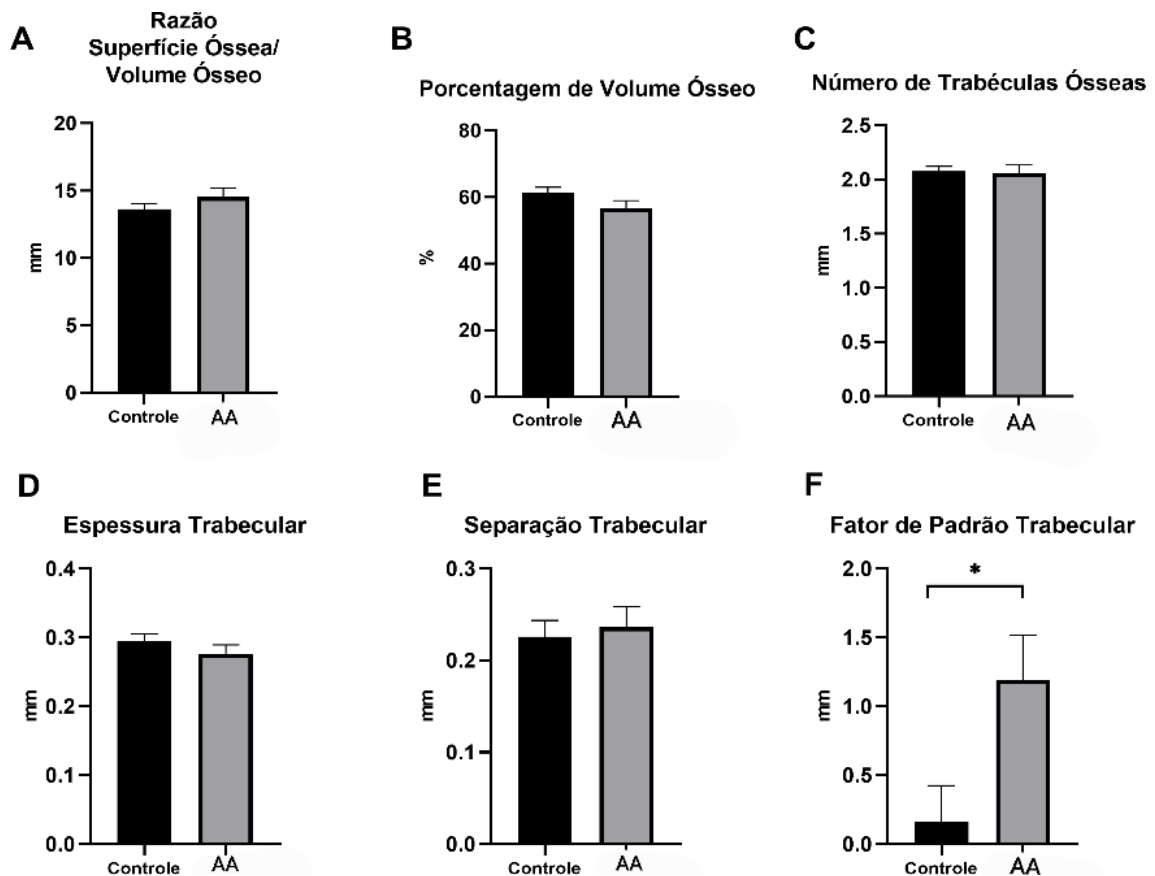


Figura 5. Resultado da análise comparativa dos parâmetros tridimensionais avaliados pela microtomografia computadorizada: Razão superfície óssea/volume ósseo (A); Porcentagem de volume ósseo (B); Número de trabéculas ósseas (C); Espessura trabecular (D); Separação de trabéculas (E); Fator de padrão trabecular (F). * $P < 0.05$, de acordo com o teste t de Student.

4 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o consumo da glucose de milho (xarope de milho), um açúcar de adição amplamente utilizado pela indústria e de alto consumo, resultou em aumento da expressão de iNOS no tecido gengival de ratos submetidos ao desenvolvimento de periodontite espontânea, em comparação ao grupo controle. Esse achado apresenta um dos possíveis mecanismos biológicos da associação observada entre consumo de AA e inflamação periodontal em humanos. Ainda, houve aumento no fator de padrão trabecular ósseo nas hemimandíbulas dos animais, sendo este um parâmetro microtomográfico indicativo de sinais iniciais de perda óssea em doenças osteometabólicas (Vogel et al., 1989).

Os dados são pioneiros na avaliação do impacto do açúcar de adição sobre a expressão gênica da iNOS e parâmetros ósseos periodontais, contribuindo para o conhecimento dos possíveis efeitos deletérios causados por esse padrão de consumo e fornecendo informações importantes para a realização de estudos futuros que investiguem outros mediadores e parâmetros inflamatórios relacionados a um padrão de dieta rico em consumo de AA. Tendo em vista a natureza crônica e não transmissível da periodontite, considerada a sexta condição crônica mais frequente no mundo (BRASIL, 2022), o maior entendimento acerca do potencial efeito inflamatório dos AA sobre as estruturas periodontais pode contribuir para o conhecimento acerca dos mecanismos de evolução da doença.

Os AA são todos os açúcares adicionados durante o processamento de alimentos e elaboração de bebidas, como bolo, pão, refrigerantes e geleias (Cleveland et al., 1997; WHO, 2015). Seu uso comercial extensivo vem sendo associado ao aumento da prevalência de síndrome metabólica e exacerbação da resposta inflamatória em diversos estudos (Wang et al., 2022; Nazir, 2017). Isso se dá devido à liberação de metabólitos relacionados ao estresse oxidativo e à indução de resposta inflamatória crônica, perturbando, assim, as funções dos tecidos e órgãos locais (Zhang et al., 2017), além de estar associado a maior risco de desenvolvimento de DCNTs (Nazir, 2017; Mai e Jai, 2019; Dinunzio et al., 2020).

Estudos em modelo animal têm relatado efeitos inflamatórios associados ao consumo de açúcares de adição. Tem sido demonstrado que o consumo crônico de xarope de milho rico em frutose (HFCS), um dos açúcares de adição mais utilizados

no mundo, promoveu aumento da expressão gênica da iNOS em tecido hepático, seguido de esteatose hepática e aumento do infiltrado inflamatório (Kanuri et al., 2011), e aortas de ratos (C. Babacanogluet al., 2013).

No presente estudo, os animais foram expostos diariamente à glucose de milho, um açúcar de adição produzido a partir do amido de milho, e amplamente utilizado para aumentar a viscosidade e transformar a textura dos alimentos, tornando-os mais cremosos por evitar a cristalização do açúcar quando submetido a maiores temperaturas, possuindo um papel bem estabelecido como ingredientes-chave na alimentação pela indústria. A glucose de milho é produzida a partir da hidrólise parcial do amido de milho, que gera, como produto final, uma mistura de vários açúcares, contendo alguns tipos de oligo e polissacarídeos, como as dextrinas, que não se cristalizam, garantindo a consistência de xarope ao produto. Entretanto, é a glicose o composto de maior predominância em sua composição (Tateo, 1982; Camargo et al., 1989).

Trabalhos têm demonstrado a influência de níveis elevados de glucose sobre a indução da resposta inflamatória. Altas doses de glucose podem, por exemplo, induzir a produção de ânion superóxido em macrófagos ou monócitos, levando à sua ativação, além de influenciar na liberação de citocinas inflamatórias de monócitos, regulando os receptores do sistema imunológico inato (Jafar et al., 2016; Al-Khafaji et al., 2016). O trabalho de Zhang et al., (2019) também demonstrou que altas doses de glucose promoveram resposta inflamatória mais agressiva, gerando, assim agravamento da doença autoimune induzida em camundongos. Por isso buscou-se avaliar os efeitos da glucose de milho, um açúcar de adição rico em glucose, sobre a expressão gênica de iNOS tecido gengival, e sobre parâmetros tridimensionais relacionados à reabsorção óssea alveolar.

Os modelos animais de periodontite são utilizados para investigações sobre fatores da etiopatogenia da doença (Struillou et al., 2010) por possibilitarem o controle de fatores como quantidade ingerida, gênero e idade, além de anatomia periodontal da região de molares semelhante à de seres humanos (Maki, 1990; Branch- Mayset et al., 2008). Dessa forma, contribuem para a investigação de mecanismos biológicos que possam explicar a associação entre o consumo de AA e periodontite, observada nos estudos epidemiológicos em humanos. Ainda, estudos que avaliam a destruição óssea alveolar desenvolvida de forma espontânea são indicados por promoverem um modelo de inflamação equivalente ao modelo de inflamação crônica encontrado em

humanos, e vem sendo utilizados para a avaliação do possível impacto de consumo de bebidas a longo prazo (Oballe et al., 2018; Wagner et al., 2019; Ekici et al., 2021).

Os animais expostos à glucose de milho ou água apresentaram ganho de peso semelhante durante todo o período experimental. Por outro lado, com relação ao consumo diário de bebida e ração, ambos foram menores no grupo AA do que no grupo controle, o que sugere a existência de uma relação entre o maior consumo de glucose de milho e o maior fornecimento de energia e saciedade (Wang et al., 2020). Isso pode ser explicado visto que a glicose, após sofrer metabolização hepática, chega ao músculo esquelético para degradação e conversão em energia (Shantope, 2016), produzindo sensação de saciedade devido ao aumento do índice glicêmico (Carvallo et al., 2019).

Os resultados demonstraram elevada indução da expressão da iNOS no tecido gengival nos animais expostos à glucose de milho, sugerindo potencial efeito inflamatório local do AA, visto que alterações na expressão gênica de moléculas pró-inflamatórias podem funcionar como marcadores precoces da resposta inflamatória (Zhou et al., 2009). Sabe-se que a iNOS apresenta-se em níveis aumentados com a progressão da doença, colaborando com a regulação da ação de citocinas pró-inflamatórias (Wang et al., 2019). Nesse sentido, tem sido sugerido que uma maior expressão de iNOS está diretamente relacionada à reabsorção óssea alveolar (Kirkwood et al., 2007; Lappin et al., 2000). Sua expressão aumentada na presença de estímulos pró-inflamatórios está associada à produção de maiores quantidades de NO por um período prolongado (Borkar et al., 2016).

A produção excessiva de NO promove vasodilatação local e estimula o aumento do infiltrado inflamatório, contribuindo com o processo de reabsorção óssea por meio da modulação da osteoclastogênese (Lappin et al., 2000; Borkar et al., 2016). Maiores níveis de iNOS e NO também podem contribuir com o aumento da perda óssea alveolar devido à maior expressão de MMP-1, enzima que induz degradação do colágeno nas superfícies ósseas e a ativação dos osteoclastos para a degradação óssea (Lin et al., 2009).

Para a análise da reabsorção óssea alveolar nos animais, utilizou-se a micro-CT, método considerado como padrão-ouro na análise tridimensional do tecido ósseo, por garantir avaliação mais detalhada da microestrutura óssea, e que vem sendo extensivamente utilizado para o estudo do tecido ósseo (Liu et al., 2010; Bagi et al., 2011; Becker et al., 2018). Com exceção dos parâmetros densitométricos, os

parâmetros geométricos do osso podem ser detectados com precisão através da micro-CT, como área transversal total, área cortical, fração de área óssea cortical e espessura cortical. Além disso, esse método pode fornecer informações detalhadas sobre o osso trabecular, como porcentagem do volume ósseo, superfície específica do osso, espessura trabecular, separação óssea trabecular e média trabecular número de ossos (Bouxsein et al., 2010).

Os resultados da análise microtomográfica demonstraram um fator de padrão trabecular significativamente maior nas hemimandíbulas do grupo AA em comparação ao grupo controle, sugerindo possíveis efeitos nocivos dos AA sobre o tecido ósseo, visto que a configuração tridimensional das trabéculas e sua extensão de conectividade são importantes para a estabilidade do osso.

O fator de padrão trabecular parece ser capaz de detectar estágios iniciais de síndromes de perda óssea e outras desordens ósseas acompanhadas de alterações estruturais, mesmo anteriormente às alterações drásticas de volume (Vogel et al., 1989). Embora a glucose de milho não tenha levado a uma alteração significativa no volume ósseo dos animais, estudos sugerem que quanto maior for o fator de padrão trabecular, menor será o volume ósseo (Vogel et al. 1989).

Dessa forma, tal resultado sugere potencial impacto negativo do consumo crônico do açúcar de adição sobre o osso alveolar, entretanto estudos futuros deverão investigar se há um impacto sobre o processo de reabsorção alveolar. Estudos futuros com o consumo crônico de açúcares de adição também deverão avaliar a relação entre os diversos parâmetros ósseos em modelos adicionais de periodontite experimental, bem como o impacto sistêmico de tais substâncias sobre a microarquitetura óssea.

O presente estudo buscou contribuir com o maior entendimento dos mecanismos relacionados ao potencial inflamatório de um açúcar de adição no periodonto, levando-se em consideração que as doenças periodontais atingem grande parte da população, com a periodontite sendo importante causa da perda dentária, além de apresentarem potencial risco à saúde sistêmica. Dessa forma, os resultados servem como um alerta à população e às comunidades médica e odontológica, tendo em vista que tais danos podem ser elevados devido ao fácil e amplo acesso da população aos açúcares adicionados em bebidas e alimentos industrializados.

Nesse sentido, a avaliação de mecanismos biológicos relacionados ao potencial inflamatório dos açúcares de adição deve continuar sendo explorada em novos

estudos animais e/ou em estudos clínicos futuros, tendo em vista que é pertinente que sejam avaliados outros marcadores inflamatórios importantes na progressão da periodontite. É importante que, além da expressão gênica, sejam avaliados também os níveis de produção de tais marcadores inflamatórios, através de avaliações histológicas e de níveis de proteínas específicas nos tecidos gengivais (como as citocinas pró-inflamatórias), visto que, assim, haverá maior segurança para a avaliação do grau de inflamação local. Além disso, a avaliação morfométrica da perda óssea alveolar poderá trazer dados complementares para a avaliação do grau de reabsorção óssea sofrido pelos animais.

5 CONCLUSÃO

O consumo crônico da glucose de milho, um açúcar de adição, aumentou a expressão gênica de iNOS no tecido gengival, e promoveu aumento do fator de padrão trabecular ósseo nas hemimandíbulas de ratos com periodontite espontânea, sugerindo uma possível influência negativa do açúcar de adição sobre o processo inflamatório local e impacto na microestrutura trabécular do osso alveolar.

AGRADECIMENTOS

Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão, Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC-UFMA), Biotério e Laboratório das Infecções Respiratórias da Universidade Ceuma.

REFERÊNCIAS

1. Anbinder AL, Moraes RM, Lima GM, Oliveira FE, Campos DR, Rossoni RD (2016). Periodontal disease exacerbates systemic ovariectomy induced bone loss in mice. *Bone*, 83, 241-247.
2. Babacanoglu C., Yildirim N., Sadi G., Pektas MB., Akar F. Resveratrol prevents highfructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *FoodChemToxicol* 2013; 60: 160-167.
3. Batista, AC. et al. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Diseases*, v. 8, n. 5, p. 254–260, 2002.
4. Becker M, Souza MA, Moraes LG, Silva GS, Antoniassi NAB, Souza RL, Colodel EM (2018). Bone quality evaluation of experimental osteometabolic disease in Pantanal alligators (*Caiman yacare*) by High Resolution Computerized Microtomography (μ CT). *Pesq. Vet. Bras*, 38 (05).
5. Borkar P, Bhutada G, Pandagale S (2016). Nitric Oxide - An Inflammatory Biomarker in Oral and Periodontal Diseases, 3(2), 76-80.
6. Branch-Mays G L. The Effects of a Calorie Reduced Diet on Periodontal Inflammation and Disease in a NonHuman Primate Model. *Journal of Periodontology*. [s.l.], v.79, n.7, p.1184–1191, 2008.
7. Branco-de-Almeida LS, Franco GC, Castro ML, Dos Santos JG, Anbinder AL, Cortelli SC, Kajiya M, Kawai T, Rosalen PL. Fluoxetine inhibits inflammatory response and bone loss in a rat model of ligature-induced periodontitis. *J Periodontol* 2012; 83(5): 664-71.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Menos açúcar para uma alimentação mais saudável, 2018. Disponível em <https://saudebrasil.saude.gov.br/eu-quero-me-alimentar-melhor/menos-açucar-para-uma-alimentacao-mais-saudavel>. Acesso em 07 de dez de 2022.
9. Buduneli N. Biomarkers in Periodontal Health and Disease: rationale, benefits, and futures direction. *Turker: Springer* 2020; 1-90.
10. Carmo CDS, Ribeiro MRC, Teixeira JXP, et al. Added Sugar Consumption and Chronic Oral Disease Burden among Adolescents in Brazil. *J Dent Res*.

2018;97(5):508-514.

11. Camargo, R et al. Technology of agricultural products. Rural Library. Nobel Bookshop AS, 1° edição, 1989.

12. Cekici A., Kantarci A., Hasturk H., Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2014; 64(1): 57-80.

13. Cigliano L, Spagnuolo MS, Crescenzo R, et al. Short-Term Fructose Feeding Induces Inflammation and Oxidative Stress in the Hippocampus of Young and Adult Rats. *Mol Neurobiol.* 2018;55(4):2869-2883.

14. Cleveland LE, Cook DA, Krebs-Smith SM, Friday J. Method for assessing food intakes in terms of servings based on food guidance. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(4 Suppl):1254S-1263S.

15. Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, Hwang DH, Jialal I. High glucose induces toll-like receptor expression in human monocytes: mechanism of activation. *Diabetes.* 2008;57(11):3090-3098.

16. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M (2013). Periodontal Disease: Linking the Primary Inflammation to Bone Loss. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013: 503754.

17. Fields S (2004). The fat of the land: do agricultural subsidies foster poor health? *Environ Health Perspect*, 112, A820–A823.

18. Garant PR, Cho MI. Histopathogenesis of spontaneous periodontal disease in conventional rats. I. Histometric and histologic study. *J Periodontal Res.* 1979;14(4):297-309.

19. Garlet, G.P. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Re-appraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *J Dent Res*, [s.l.], v. 89, n. 12, p. 1349-1363, dez. 2010.

20. Genco, R.J.; Borgnakke, W.S. Risk factors for periodontal disease. *Periodontology*, [s.l.], v.62, n.1, p. 59–94, jun. 2000.

21. .Hujoel, P.P.; Lingstrom, P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol*, [s.l.], v. 44, p.79–84, mar. 2017.

22. Hussain, Q. A.; Mckai, I. J.; Gonzales-Marin, C.; Allaker, R. P. Detection of adrenomedullin and nitric oxide in different forms of periodontal disease. *Journal Of Periodontal Research*, [s.l.], v. 51, n. 1, p. 16-25, 13 abr. 2015.

23. Jafar N, Edriss H, Nugent K. The Effect of Short-Term Hyperglycemia on the Innate Immune System. *Am J Med Sci*. 2016;351(2):201-211.
24. Jung HY, Kim YG, Park JW, Suh JY, Lee JM. The expression of a nitric oxide derivative, tissue inhibitors of metalloproteinase-3, and tissue inhibitors of metalloproteinase-4 in chronic periodontitis with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontal Implant Sci*. 2013 Apr;43(2):87-95.
25. Kanuri G., Spruss A., Wagnerberger S., Bischoff SC., Bergheim I. Role of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J. Nutr. Biochem*. 2011, 22, 527–534.
26. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthi I, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1): 27-31.
27. Kirkwood, KL. et al. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontology* 2000. [s.l.], v. 43, n. 1, p.294–315, out. 2007.
28. Korkmaz OA, Sumlu E, Koca HB, Pektas MB, Kocabas A, Sadi G, Akar F. Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Helveticus* on Renal Insulin Signaling, Inflammatory Markers, and Glucose Transporters in High-Fructose-Fed Rats. *Medicina (Kaunas)*. 2019 May 24;55(5):207.
29. Kovacevic S., Nestorov J., Matic G., Elakovic I. Fructose-enriched diet induces inflammation and reduces antioxidative defense in visceral adipose tissue of young female rats. *Eur J Nutr*. 2017;56(1):151-160.
30. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(12):745-759.
31. Lappin, DF. et al. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, [s.l.], v. 35, n. 6, p.369-373, dez. 2000.
32. Lin SK, Kok SH, Kuo MY, et al. Nitric oxide promotes infectious bone resorption by enhancing cytokine-stimulated interstitial collagenase synthesis in osteoblasts. *J Bone Miner Res*. 2003;18(1):39-46.
33. Liu YF, Wu LA, Wang J, Wen LY, Wang XJ (2010). Micro-computerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodont Res*, 45, 714–719.
34. Lohinai Z, Benedek P, Fehér E, et al. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in

ligature-induced periodontitis in the rat [published correction appears in *Br J Pharmacol* 1998 Apr;123(8):741]. *Br J Pharmacol*. 1998;123(3):353-360

35. Lula EC., Ribeiro CC., Hugo FN., Alves CM., Silva AA. Added sugars and periodontal disease in young adults: an analysis of NHANES III data. *Am J Clin Nutr* 2014; 100: 1182-7.

36. Maki, E. Effect of lipopolysaccharide on biological properties and induction of alveolar bone resorption in rats. *Aichi Gakuin Daigaku Shigakkai shi*, [s.l.], v. 28, p.283–294, mar. 1990.

37. Marshall, T. A. Nomenclature, characteristics, and dietary intakes of sugars. *Journal of the American Dental Association*, v. 146, n. 1, p. 61-4, 2015

38. Menaka KB, Ramesh A, Thomas B, Kumari NS. Estimation of nitric oxide as an inflammatory marker in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 2009; 13(2): 75–78.

39. Moreira ARO, Batista RFL., Ladeira LLC., Thomaz EBAF., Alves CMC., Saraiva MC., Silva AAM., Brondani MA., Ribeiro CCC. Higher sugar intake is associated with periodontal disease in adolescents. *Clinical Oral Investigations* 2020; 24(10): 1-9.

40. Morimoto J, Senior A, Ruiz K, Wali JA, Pulpitel T, Solon-Biet SM, Cogger VC, Raubenheimer D, Le Couteur DG, Simpson SJ, Eberhard J. Sucrose and starch intake contribute to reduced alveolar bone height in a rodent model of naturally occurring periodontitis. *PLOS ONE* 2019; 14(3): 1-10.

41. Murrell GA , Jang D , Williams RJ 1995 O óxido nítrico ativa enzimas metaloproteases na cartilagem articular . *Biochem Biophys Res Commun* **206** : 15 – 21 .

42. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International Journal of Health Sciences* 2017; 1(2).

43. Ö, E. et al. Masseter muscle and gingival tissue inflammatory response following treatment with high-fructose corn syrup in rats: Anti-inflammatory and antioxidant effects of kefir. *Journal Of Food Biochemistry*, 16 abr. 2021.

44. Oballe HUR, Gaio EJ, Spuldaro T, Cavagni J, Gomez R, Rosing CK. Effects of Alcohol and/or Tobacco Exposure on Spontaneous Alveolar Bone Loss in Rat. *Brazilian Dental Journal*, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 197-202, jul. 2014.

45. Papapanou PN, Susin C. Periodontitis epidemiology: is periodontitis under-recognized, over-diagnosed, or both? *Periodontology* 2000 2017; 75(1): 45–51.

46. Park CH, Abramson ZR, Taba M Jr, Jin Q, Chang J, Kreider JM, Goldstein SA, Giannobile WV (2007). Three-dimensional micro-computed tomo-graphic imaging of alveolar bone in exper-imental bone loss or repair. *J Periodontol*, 78, 273–281.
47. Rippe JM.; Angelopoulos TJ. Sucrose, High-Fructose Corn Syrup, and Fructose, Their Metabolism and Potential Health Effects: What Do We Really Know?. *Adv. Nutr.*, [s.l.], v. 4, p.236–245, mar. 2013.
48. Schmittgen TD, Livak KJ (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc*, 3(6), 1101-8.
49. Stanhope KL. Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2016; 53(1): 52-67.
50. Struillou, X. et al. Experimental Animal Models in Periodontology: A Review. *The Open Dentistry Journal*, [s.l.], v. 37, n. 4, p.37-47, abr. 2010.
51. Sun S, Zhang D, Wu Y, et al. The expression of inducible nitric oxide synthase in the gingiva of rats with periodontitis and diabetes mellitus. *Arch Oral Biol*. 2020;112:104652.
52. Tateto, F. Bullet technology update, sugary fruits and jellies. Campinas: Tropical Research and Technology Foundation, 1982, 88p.
53. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal Of Periodontology*, [S.L.], v. 89, p. 159-172, jun. 2018.
54. USDA. United States Department of Agriculture and US Department of Health and Human Services. Agriculture Research Service. Beltsville Human Nutrition Research Center. Nutrient Data Laboratory. USDA Database for the Added Sugars Content of Selected Foods – Release 1. Beltsville: Human Nutrition Research Center, 2006.
55. Valente D, Costa-Amaral IC, Carvalho LV, Santos MV, Castro VS, Rodrigues DR, et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. *Rev Bras Saude Ocup*. 2017;42, suppl.1:e2s.
56. Vogel M, Hahn M, Pompesius-Kempa M, Delling G (1989). Trabecular microarchitecture of the human spine. *Neuere Ergebnisse in der Osteologie*, 449- 455.
57. Wagner MC, Cavagni J, Gaio EJ, Brum VS, Jesus LH, Filho MS, Carrard VC, Dorneles GP, Peres A, Rösing CK. Effect of red wine and its major components on periodontitis and systemic inflammation in rats. *J Int Acad Periodontol*. 2019 Oct

1;21(4):139-147.

58. Wang Y.; Huang, X.; HE, F. Mechanism and role of nitric oxide signaling in periodontitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 18, n. 5, p. 3929–3935, nov. 2019.

59. World Health Organization. WHO calls on countries to reduce sugars intake among adults and children, 2015. Disponível em <https://www.who.int/news/item/04-03-2015-who-calls-on-countries-to-reduce-sugars-intake-among-adults-and-children>.

Acesso em 11 de dez de 2022.

60. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients* 2017; 9(4): 1-25.

61. Zhou T, Chou J, Watkins PB, Kaufmann WK. Toxicogenomics: transcription profiling for toxicology assessment. *EXS* 2009;99:325-66.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A obtenção de novas informações acerca dos efeitos do consumo crônico de açúcares de adição sobre a expressão gênica de mediadores da inflamação e a reabsorção óssea alveolar poderá contribuir no âmbito da saúde pública, no que se refere à prevenção e ao tratamento da periodontite, levando-se em consideração o elevado consumo de açúcares de adição pela população, e que as doenças periodontais atingem grande contingente populacional, sendo a periodontite importante causa da perda dentária, além de apresentar potencial risco à saúde sistêmica.

Os resultados deste trabalho sugerem que o consumo diário de glucose de milho gerou maiores taxas de expressão gênica de iNOS, além de efeitos negativos na microestrutura óssea alveolar, entretanto, novos estudos são necessários para maior entendimento dos impactos causados pelos açúcares de adição sobre o óxido nítrico e a reabsorção óssea alveolar.

REFERÊNCIAS

Anbinder AL, Moraes RM, Lima GM, Oliveira FE, Campos DR, Rossoni RD (2016). Periodontal disease exacerbates systemic ovariectomy induced cap loss in mice. *Bone*, 83, 241-247.

Babacanoglu C., Yildirim N., Sadi G., Pektas MB., Akar F. Resveratrol prevents highfructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *FoodChemToxicol* 2013; 60: 160-167.

Batista, AC. et al. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Diseases*, v. 8, n. 5, p. 254–260, 2002.

Becker M, Souza MA, Moraes LG, Silva GS, Antoniassi NAB, Souza RL, Colodel EM (2018). Bone quality evaluation of experimental osteometabolic disease in Pantanal alligators (*Caiman yacare*) by High Resolution Computerized Microtomography (μ CT). *Pesq. Vet. Bras*, 38 (05).

Borkar P, Bhutada G, Pandagale S (2016). Nitric Oxide - An Inflammatory Biomarker in Oral and Periodontal Diseases, 3(2), 76-80.

Branch-Mays G L. The Effects of a Calorie Reduced Diet on Periodontal Inflammation and Disease in a NonHuman Primate Model. *Journal of Periodontology*. [s.l.], v.79, n.7, p.1184–1191, 2008.

Branco-de-Almeida LS, Franco GC, Castro ML, Dos Santos JG, Anbinder AL, Cortelli SC, Kajiya M, Kawai T, Rosalen PL. Fluoxetine inhibits inflammatory response and bone loss in a rat model of ligature-induced periodontitis. *J Periodontol* 2012; 83(5): 664-71.

BRASIL. Ministério da Saúde. Menos açúcar para uma alimentação mais saudável, 2018. Disponível em <https://saudebrasil.saude.gov.br/eu-queru-me-alimentar-melhor/menos-açucar-para-uma-alimentacao-mais-saudavel>. Acesso em 07 de dez de 2022.

Buduneli N. Biomarkers in Periodontal Health and Disease: rationale, benefits, and futures direction. *Turker: Springer* 2020; 1-90.

Carmo CDS, Ribeiro MRC, Teixeira JXP, et al. Added Sugar Consumption and Chronic Oral Disease Burden among Adolescents in Brazil. *J Dent Res*. 2018;97(5):508-514.

Camargo, R et al. Technology of agricultural products. Rural Library. Nobel Bookshop AS, 1° edição, 1989.

Cekici A., Kantarci A., Hasturk H., Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000 2014; 64(1): 57-80.

Cigliano L, Spagnuolo MS, Crescenzo R, et al. Short-Term Fructose Feeding Induces Inflammation and Oxidative Stress in the Hippocampus of Young and Adult Rats. *Mol Neurobiol.* 2018;55(4):2869-2883.

Cleveland LE, Cook DA, Krebs-Smith SM, Friday J. Method for assessing food intakes in terms of servings based on food guidance. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(4 Suppl):1254S-1263S.

Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, Hwang DH, Jialal I. High glucose induces toll-like receptor expression in human monocytes: mechanism of activation. *Diabetes.* 2008;57(11):3090-3098.

Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M (2013). Periodontal Disease: Linking the Primary Inflammation to Bone Loss. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013: 503754.

Fields S (2004). The fat of the land: do agricultural subsidies foster poor health? *Environ Health Perspect,* 112, A820–A823.

Garant PR, Cho MI. Histopathogenesis of spontaneous periodontal disease in conventional rats. I. Histometric and histologic study. *J Periodontal Res.* 1979;14(4):297-309.

Garlet, G.P. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Re-appraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *J Dent Res,* [s.l.], v. 89, n. 12, p. 1349-1363, dez. 2010.

Genco, R.J.; Borgnakke, W.S. Risk factors for periodontal disease. *Periodontology,* [s.l.], v.62, n.1, p. 59–94, jun. 2000.

Hujoel, P.P.; Lingstrom, P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol,* [s.l.], v. 44, p.79–84, mar. 2017.

Hussain, Q. A.; Mckai, I. J.; Gonzales-Marin, C.; Allaker, R. P. Detection of adrenomedullin and nitric oxide in different forms of periodontal disease. *Journal Of Periodontal Research,* [s.l.], v. 51, n. 1, p. 16-25, 13 abr. 2015.

Jafar N, Edriss H, Nugent K. The Effect of Short-Term Hyperglycemia on the Innate Immune System. *Am J Med Sci.* 2016;351(2):201-211.

Jung HY, Kim YG, Park JW, Suh JY, Lee JM. The expression of a nitric oxide derivative, tissue inhibitors of metalloproteinase-3, and tissue inhibitors of metalloproteinase-4 in chronic periodontitis with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontal Implant Sci.* 2013 Apr;43(2):87-95.

Kanuri G., Spruss A., Wagnerberger S., Bischoff SC., Bergheim I. Role of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J. Nutr. Biochem.* 2011, 22, 527–534.

Kilkenny C, Browne WJ, Cuthi I, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience

research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1): 27-31.

Kirkwood, KL. et al. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontology* 2000. [s.l.], v. 43, n. 1, p.294–315, out. 2007.

Korkmaz OA, Sumlu E, Koca HB, Pektas MB, Kocabas A, Sadi G, Akar F. Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Helveticus* on Renal Insulin Signaling, Inflammatory Markers, and Glucose Transporters in High-Fructose-Fed Rats. *Medicina (Kaunas)*. 2019 May 24;55(5):207.

Kovacevic S., Nestorov J., Matic G., Elakovic I. Fructose-enriched diet induces inflammation and reduces antioxidative defense in visceral adipose tissue of young female rats. *Eur J Nutr*. 2017;56(1):151-160.

Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(12):745-759.

Lappin, DF. et al. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, [s.l.], v. 35, n. 6, p.369-373, dez. 2000.

Lin SK, Kok SH, Kuo MY, et al. Nitric oxide promotes infectious bone resorption by enhancing cytokine-stimulated interstitial collagenase synthesis in osteoblasts. *J Bone Miner Res*. 2003;18(1):39-46.

Liu YF, Wu LA, Wang J, Wen LY, Wang XJ (2010). Micro-computerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine-induced experimental periodontitis in rats. *J Periodont Res*, 45, 714–719.

Lohinai Z, Benedek P, Fehér E, et al. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat [published correction appears in *Br J Pharmacol* 1998 Apr;123(8):741]. *Br J Pharmacol*. 1998;123(3):353-360.

Lula EC., Ribeiro CC., Hugo FN., Alves CM., Silva AA. Added sugars and periodontal disease in young adults: an analysis of NHANES III data. *Am J Clin Nutr* 2014; 100: 1182-7.

Maki, E. Effect of lipopolysaccharide on biological properties and induction of alveolar bone resorption in rats. *Aichi Gakuin Daigaku Shigakkai shi*, [s.l.], v. 28, p.283–294, mar. 1990.

Marshall, T. A. Nomenclature, characteristics, and dietary intakes of sugars. *Journal of the American Dental Association*, v. 146, n. 1, p. 61-4, 2015.

Menaka KB, Ramesh A, Thomas B, Kumari NS. Estimation of nitric oxide as an inflammatory marker in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 2009; 13(2): 75–78.

Moreira ARO, Batista RFL., Ladeira LLC., Thomaz EBAF., Alves CMC., Saraiva

MC., Silva AAM., Brondani MA., Ribeiro CCC. Higher sugar intake is associated with periodontal disease in adolescents. *Clinical Oral Investigations* 2020;24(10): 1-9.

Morimoto J, Senior A, Ruiz K, Wali JA, Pulpitel T, Solon-Biet SM, Cogger VC, Raubenheimer D, Le Couteur DG, Simpson SJ, Eberhard J. Sucrose and starch intake contribute to reduced alveolar bone height in a rodent model of naturally occurring periodontitis. *PLOS ONE* 2019; 14(3): 1-10.

Murrell GA , Jang D , Williams RJ 1995 O óxido nítrico ativa enzimas metaloproteases na cartilagem articular . *Biochem Biophys Res Commun* **206** : 15 – 21 .

Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International Journal of Health Sciences* 2017; 1(2).

Ö, E. et al. Masseter muscle and gingival tissue inflammatory response following treatment with high-fructose corn syrup in rats: Anti-inflammatory and antioxidant effects of kefir. *Journal Of Food Biochemistry*, 16 abr. 2021.

Oballe HUR, Gaio EJ, Spuldaro T, Cavagni J, Gomez R, Rosing CK. Effects of Alcohol and/or Tobacco Exposure on Spontaneous Alveolar Bone Loss in Rat. *Brazilian Dental Journal*, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 197-202, jul. 2014.

Papapanou PN, Susin C. Periodontitis epidemiology: is periodontitis under-recognized, over-diagnosed, or both? *Periodontology* 2000 2017; 75(1): 45–51.

Park CH, Abramson ZR, Taba M Jr, Jin Q, Chang J, Kreider JM, Goldstein SA, Giannobile WV (2007). Three-dimensional micro-computed tomo-graphic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. *J Periodontol*, 78, 273–281.

Rippe JM.; Angelopoulos TJ. Sucrose, High-Fructose Corn Syrup, and Fructose, Their Metabolism and Potential Health Effects: What Do We Really Know?. *Adv. Nutr*, [s.l.], v. 4, p.236–245, mar. 2013.

Schmittgen TD, Livak KJ (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc*, 3(6), 1101-8.

Stanhope KL. Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2016; 53(1): 52-67.

Struillou, X. et al. Experimental Animal Models in Periodontology: A Review. *The Open Dentistry Journal*, [s.l.], v. 37, n. 4, p.37-47, abr. 2010.

Sun S, Zhang D, Wu Y, et al. The expression of inducible nitric oxide synthase in the gingiva of rats with periodontitis and diabetes mellitus. *Arch Oral Biol*. 2020;112:104652.

Tateto, F. *Bullet technology update, sugary fruits and jellies*. Campinas: Tropical Research and Technology Foundation, 1982, 88p.

Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal Of Periodontology*, [S.L.], v. 89, p. 159-172, jun. 2018.

USDA. United States Department of Agriculture and US Department of Health and Human Services. Agriculture Research Service. Beltsville Human Nutrition Research Center. Nutrient Data Laboratory. USDA Database for the Added Sugars Content of Selected Foods – Release 1. Beltsville: Human Nutrition Research Center, 2006.

Valente D, Costa-Amaral IC, Carvalho LV, Santos MV, Castro VS, Rodrigues DR, et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. *Rev Bras Saude Ocup.* 2017;42, suppl.1:e2s.

Vogel M, Hahn M, Pompesius-Kempa M, Delling G (1989). Trabecular microarchitecture of the human spine. *Neuere Ergebnisse in der Osteologie*, 449-455.

Wagner MC, Cavagni J, Gaio EJ, Brum VS, Jesus LH, Filho MS, Carrard VC, Dorneles GP, Peres A, Rösing CK. Effect of red wine and its major components on periodontitis and systemic inflammation in rats. *J Int Acad Periodontol.* 2019 Oct 1;21(4):139-147.

Wang Y.; Huang, X.; HE, F. Mechanism and role of nitric oxide signaling in periodontitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 18, n. 5, p. 3929–3935, nov. 2019.

World Health Organization. WHO calls on countries to reduce sugars intake among adults and children, 2015. Disponível em <https://www.who.int/news/item/04-03-2015-who-calls-on-countries-to-reduce-sugars-intake-among-adults-and-children>. Acesso em 11 de dez de 2022.

Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients* 2017; 9(4): 1- 25.

Zhou T, Chou J, Watkins PB, Kaufmann WK. Toxicogenomics: transcription profiling for toxicology assessment. *EXS* 2009;99:325-66.

ANEXO

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PERIODONTIA NORMAS GERAIS

Os artigos para a publicação na REVISTA PERIODONTIA da SOBRAPE deverão ser inéditos e redigidos em português, inglês ou espanhol. Artigos originais de pesquisa terão prioridade para apreciação, mas artigos de revisão e relatos de casos ou técnicas, de interesse na Periodontia, também poderão ser incluídos. A REVISTA PERIODONTIA reserva todos os direitos autorais do trabalho publicado. As informações contidas nos originais e publicadas na revista são de inteira responsabilidade do(s) autor(es), não refletindo necessariamente, a opinião do Corpo Editorial da revista ou a posição da SOBRAPE.

ENVIO DO MATERIAL

Os arquivos abaixo indicados deverão ser submetidos para a Revista Periodontia pelo site www.sobrape.org.br. - Artigo (Seguir o item “Apresentação do material”) - Declaração de conflito de interesses (Disponível no site – Formulários) - Lista de conferência pré-submissão (Disponível no site – Formulários)

APRESENTAÇÃO DO MATERIAL

Os artigos deverão ser digitados em Word para Windows, com fonte Arial, tamanho 12, justificado, em folhas de papel A4 numeradas consecutivamente. Deve ser usado espaço duplo com margem de 2,5 centímetros de todos os lados. As laudas deverão ter em média 1.600 toques (26 linhas de toques), perfazendo no máximo 20 páginas (excluindo gráficos, figuras e tabelas).

SELEÇÃO DE ARTIGOS

A seleção dos artigos enviados à REVISTA PERIODONTIA será realizada pelo Conselho Editorial, que dispõe de autoridade para decidir sobre sua aceitação. No processo de revisão e aprovação, que será realizado em pares, serão avaliados: originalidade, relevância, metodologia e adequação às normas de publicação.

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Estudos que envolvam seres humanos deverão estar de acordo com a RESOLUÇÃO 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, e terem sido aprovados pela Comissão de Ética da Unidade /Instituição em que foram realizados. As mesmas considerações são feitas para estudos em animais. O número de aprovação do comitê deverá estar presente no artigo.

ESTUDOS CLÍNICOS

A Revista Periodontia estimula que os pesquisadores responsáveis por estudos clínicos façam os registros dos mesmos (www.clinicaltrials.gov). Relatos de estudos clínicos randomizados devem contemplar os critérios disponíveis em: <http://www.consort-statement.org/>

ESTRUTURA DO ARTIGO

O trabalho deverá ser numerado (canto inferior direito) e dividido conforme os itens abaixo:

Primeira página (página 1):

- **Página de título** (Português e Inglês – para artigos redigidos em português; Espanhol e Inglês – para artigos redigidos em espanhol; Inglês – para artigos redigidos em inglês): deverá conter o título do artigo em negrito, o nome dos autores numerados de acordo com a filiação (instituição de origem, cidade, país), a principal titulação dos autores de forma resumida (sem nota de rodapé) e endereço do autor correspondente (contendo o endereço eletrônico – e-mail). As demais páginas devem ser na forma de texto contínuo.

Exemplo:

Associação do PDGF e IGF na Regeneração Periodontal – Revisão de Literatura
Fernando Hayashi¹, Fernando Peixoto¹, Chistiane Watanabe Yorioka¹, Francisco Emílio Pustiglioni²
¹ Mestrandos em Periodontia da FOU SP ² Professor titular de Periodontia da FOU SP

Segunda página (página 2):

- **Resumo:** deve fornecer uma visão concisa e objetiva do trabalho, incluindo objetivos, material e métodos, resultados e as conclusões. Deve conter no máximo 250 palavras (incluindo pontos, vírgulas etc).

- **Palavras-chave:** são palavras ou expressões que identificam o conteúdo do texto. Para sua escolha, deverá ser consultada a lista “Descritores em Ciências de Saúde – DECS”, da BIREME. Número de palavras-chave: máximo 6. OBS: Para artigos redigidos em língua estrangeira, Espanhol ou Inglês, o item Resumo não configura item obrigatório.

Terceira página (página 3):

- Abstract e Keywords: cópia precisa e adequada do resumo e palavras-chave em Inglês. Deverá ser consultada a lista “Medical subject headings”. Disponível em www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html. Número de Keywords: máximo 6.

- Sugere-se para autores não-nativos que procurem assistência com a sua escrita utilizando instituições especializadas como American Journal Experts (<http://www.journalexerts.com>)

Quarta e demais páginas (página 4 e demais):

- **Introdução:** é o sumário dos objetivos do estudo, de forma concisa, citando as referências mais pertinentes. Também deve apresentar as hipóteses em estudo e a justificativa do trabalho.

- **Material e Métodos:** devem ser apresentados com suficientes detalhes que permitam confirmação das observações encontradas, indicando os testes estatísticos utilizados.

- **Resultados:** as informações importantes do trabalho devem ser enfatizadas e apresentadas em sequência lógica no texto, nas figuras e tabelas, citando os testes estatísticos. As tabelas e figuras devem ser numeradas (algarismo arábico) e citadas durante a descrição do texto. Cada tabela deve conter sua respectiva legenda, citada acima, em espaço duplo, em página separada, no final do artigo depois das referências. As figuras também devem estar localizadas em páginas separadas, no final do texto, porém, as legendas devem estar localizadas a baixo.

- **Discussão:** os resultados devem ser comparados com outros trabalhos descritos na literatura, onde também podem ser feitas as considerações finais do trabalho.

- **Conclusão:** deve responder: objetivamente aos questionamentos propostos.

- **Agradecimentos (quando houver):** a assistências técnicas, laboratórios, empresas e colegas participantes.

- **Referências Bibliográficas:** Essa seção será elaborada de acordo com as Normas Vancouver (disponíveis em: [www. icmje.org](http://www.icmje.org)), devendo ser numeradas sequencialmente conforme aparição no texto. E, as abreviações das revistas devem estar em conformidade com o Index Medicus/ MEDLINE.

Todos os autores da obra devem ser mencionados.

Exemplos – Normas **Vancouver:**

Artigo de Revista:

1.Lima RC, Escobar M, Wanderley Neto J, Torres LD, Elias DO, Mendonça JT et al. Revascularização do miocárdio sem circulação extracorpórea: resultados imediatos. Rev Bras Cir Cardiovasc 1993; 8: 171-176.

Instituição como Autor:

1. The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. Med J Aust 1996; 116:41-42. Sem indicação de autoria: 1. Cancer in South Africa. [editorial]. S Af Med J 1994; 84-85.

Capítulo de Livro: 1. Mylek WY. Endothelium and its properties. In: Clark BL Jr, editor. New frontiers in surgery. New York: McGraw-Hill; 1998. p.55-64.

Livro:

1. Nunes EJ, Gomes SC. Cirurgia das cardiopatias congênitas. 2a ed. São Paulo: Sarvier; 1961. p.701.

Tese:

1. Brasil LA. Uso da metilprednisolona como inibidor da resposta inflamatória sistêmica induzida pela circulação extracorpórea [Tese de doutorado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1999. 122p.

Eventos:

1. Silva JH. Preparo intestinal transoperatório. In: 45° Congresso Brasileiro de Atualização em Coloproctologia; 1995; São Paulo. Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Coloproctologia; 1995. p.27-9.

1. Minna JD. Recent advances for potential clinical importance in the biology of lung cancer. In: Annual Meeting of the American Medical Association for Cancer Research; 1984 Sep 6-10. Proceedings. Toronto: AMA; 1984;25:293-4.

Material eletrônico:**Artigo de revista:**

1. Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1):[24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Livros:

1. Tichenor WS. Sinusitis: treatment plan that works for asthma and allergies too [monograph online]. New York: Health On the Net Foundation; 1996. [cited 1999 May 27]. Disponível em : URL: <http://www.sinuses.com>

Capítulo de livro:

1. Tichenor WS. Persistent sinusitis after surgery. In: Tichenor WS. Sinusitis: treatment plan that works for asthma and allergies too [monograph online]. New York: Health On the Net Foundation; 1996. [cited 1999 May 27]. Disponível em: URL: <http://www.sinuses.com/postsurg.htm>

Tese:

1. Lourenço LG. Relação entre a contagem de microdensidade vasal tumoral e o prognóstico do adenocarcinoma gástrico operado [tese online]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1999. [citado 1999 Jun 10]. Disponível em: URL: <http://www.epm.br/cirurgia/gastro/laercio>

Eventos:

1. Barata RB. Epidemiologia no século XXI: perspectivas para o Brasil. In: 4º Congresso Brasileiro de Epidemiologia [online].; 1998 Ago 1-5; Rio de Janeiro. Anais eletrônicos. Rio de Janeiro: ABRASCO; 1998. [citado 1999 Jan 17]. Disponível em: URL: <http://www.abrasco.com.br/epirio98> Informações adicionais podem ser obtidas no seguinte endereço eletrônico: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

- **Citações no texto:** Ao longo do texto, deve ser empregado o sistema autor-data. Segundo as normas Vancouver, apenas a primeira letra do sobrenome do autor é grafada em maiúscula, sendo o ano da publicação apresentado entre parênteses. Trabalhos com até dois autores, têm ambos os sobrenomes mencionados no texto, separados por “&”. Trabalhos com três ou mais autores, terão ao longo do texto mencionado apenas o primeiro seguido da expressão “et al”. Se um determinado conceito for suportado por vários estudos, para a citação desses, deverá ser empregada a ordem cronológica das publicações. Nesse caso, o ano de publicação é separado do autor por vírgula (“;”) e as diferentes publicações separadas entre si por ponto e vírgula (“;”).

- **Declaração de conflitos de interesse e fomento:** esse é um item obrigatório que deve ser conciso indicando: a) se houve apoio financeiro de qualquer natureza devendo-se nesse caso mencionar nominalmente a agência de fomento e b) se há qualquer tipo de conflito de interesse relacionado à pesquisa em questão. Em casos negativos sugere-se o uso da frase

Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse e apoio financeiro relacionados ao presente artigo.

- Figuras e Tabelas

As tabelas e figuras deverão ser apresentadas em folhas separadas após a seção: **Referências Bibliográficas** (uma tabela/ figura por folha com a sua respectiva legenda).

Figuras em formato digital (arquivo JPG ou TIFF): Resolução de 300 DPIs.

As imagens serão **publicadas em preto e branco**. Caso haja interesse dos autores há possibilidade de impressão colorida das imagens, havendo custo adicional de responsabilidade dos autores.

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS (CEUA-CEUMA)



CEUMA – UNIVERSIDADE
Reitoria
Gerências de Graduação e Pós-Graduação
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA UNICEUMA

DECISÃO DA CEUA – UNICEUMA SOBRE PROTOCOLO SUBMETIDO

DATA DO RECEBIMENTO: ^{28/02} 1 / 2019

Nº DO PROTOCOLO: 3119

Nº DO PARECER: 07 / 2019

DATA DO PARECER: 20/05/2019

TÍTULO DO PROJETO/AULA: Efeitos da ingestão de um açúcar de adição sobre tecidos periodontais e marcadores sistêmicos em ratos

CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA: 36 *Rattus norvegicus* linhagem Wistar machos, adultos, 1 mês/9 semanas de idade pesando aproximadamente 150-250g / 250-350g.

PESQUISADOR/PROFESSOR RESPONSÁVEL: Lidio Gonçalves Lima Neto

COLABORADORES: Luciana Salles Branco de Almeida, Heloiza Viana Freitas de Melo, Cecília Cláudia Costa Ribeiro, Caroline da Cruz Corrêa, Eduardo Bandeira Sousa Silva.

DECISÃO: (X) APROVADO () PENDENTE () EXCLUÍDO () NÃO APROVADO

A CEUA-UNICEUMA, em sua função de examinar previamente os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados na Instituição, para determinar sua compatibilidade com a legislação aplicável (Lei. 11794 e Resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA). Reuniu-se no dia 15/05/2018, para apreciar a análise do relator da proposta de protocolo nº 12/18, tendo chegado por votação da maioria dos membros presentes, as seguintes considerações:

Considerações: O projeto tem como objetivo avaliar os efeitos do xarope de milho rico em frutose (HFCS) sobre os tecidos periodontais e marcadores sistêmicos inflamatórios e bioquímicos em ratos sem e com doença periodontal induzida. O experimento realizado seguirá todos os quesitos de bem-estar animal estabelecido pelo guia de cuidados e usos de animais de laboratório do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (EUA). Para isso, serão montados dois modelos de doença periodontal (DP), um Modelo de PD espontânea que irá utilizar 12 animais com um mês de idade. Neste modelo os animais serão agrupados em dois grupos com seis animais cada (Grupo HFCS e Grupo Placebo) e permanecerão sob tratamento por 9 semanas. No Modelo de DP induzida por ligadura, a DP será induzida, após anestesia, pela colocação de um fio de algodão (ligadura). Serão utilizados 24 animais com idade de 3 meses distribuídos em quatro grupos com seis animais (Grupo Ligadura + HFCS; Grupo Ligadura + Placebo; grupo HFCS e Grupo Controle) e permanecerão sob tratamento por 15 dias. Após cada período experimental os animais serão eutanasiados e serão coletados saliva, sangue e os tecidos gengivais, além das ligaduras, hemiacardas mandibulares, fígado e rins. Os autores não descreveram o grau de Invasividade. Os animais serão mantidos em gaiolas que obedecerá ao padrão estabelecido pelo guia de cuidados e uso de animais de

laboratório, onde a gaiola para animais com até 300g precisam ter área do piso/animal de 187,05cm² e altura de 45,15 cm. Os animais serão alimentados com ração industrial para ratos oferecida ad libitum água filtrada e gaiolas forradas com maravalha. O biotério conta com sistema de exaustão de ar. Os autores também descrevem que serão utilizados cloridrato de cetamina 90mg/kg (IM), cloridrato de xilazina 10mg/kg (IM)) para anestesia no momento da indução da DP. O sacrifício após os períodos experimentais (9 semanas ou 15 dias) será por indução de anestesia profunda. O projeto possui mérito técnico-científico

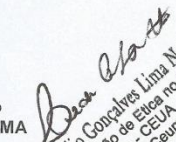
Conclusão: Aprovado

Com base nos dados fornecidos pelo proponente, a Comissão, autoriza o protocolo supracitado, devendo o presente documento ser apresentado a Coordenação do Biotério, para agendamento do início dos procedimentos.

* Cópia do protocolo segue anexa.

São Luís 20/05/2019

Lídio Gonçalves Lima Neto
Coordenador CEUA-UNICEUMA
CEUA-UNICEUMA


Prof. Dr. Lidio Gonçalves Lima Neto
Coord. Comissão de Ética no Uso
de Animais - CEUA
Universidade Ceuma

ANEXO C – TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO NA BIBLIOTECA

DIVISÃO DE INFORMAÇÃO DIGITAL
REPOSITÓRIO DE MONOGRAFIAS
TERMO DE AUTORIZAÇÃO

TCC Graduação TCC Especialização

Curso: Odontologia

Autor: Rebeca Bezerra Mendonça

Título: **Efeitos do consumo de açúcar de adição sobre a expressão da óxido nítrico sintase induzível e a reabsorção alveolar em ratos com periodontite espontânea.**

CPF: 046.996.143-02


E-mail: rebeca.mendonca@discente.ufma.br

Orientador: Luciana Salles Branco de Almeida

Coorientador:


Data de defesa: 23/08/2023

Eu, Rebeca Bezerra Mendonça, na qualidade de titular dos direitos autorais desta obra e de acordo com a Lei nº 9610/98, **autorizo** a Universidade Federal do Maranhão (UFMA), a disponibilizá-la na rede mundial de computadores (Internet), gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, para fins de leitura, impressão ou download, a título de divulgação da produção científica gerada pela Universidade e sem fins comerciais.

Documento assinado digitalmente
 REBECA BEZERRA MENDONÇA
Data: 18/08/2023 00:06:04-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Rebeca Bezerra Mendonça

(Autora)

Documento assinado digitalmente
 LUCIANA SALLES BRANCO DE ALMEIDA
Data: 17/08/2023 11:32:50-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª. Drª. Luciana Salles Branco de Almeida

(Orientadora)

São Luís, 16 de agosto de 2023.

Cidade Universitária Dom Delgado – UFMA
Av. dos Portugueses, 1.966, Biblioteca Central - São Luís-MA - CEP: 65080-805
Fone: (98) 3272-8654 - E-mail: bibliotedigital@ufma.br

