



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA (PPGO) - NÍVEL MESTRADO



GABRIELA ROZA GARCIA

Influência da obesidade e periodontite materna sobre a perda óssea alveolar da
prole feminina de ratos

Cascavel-PR
2021

GABRIELA ROZA GARCIA

Influência da obesidade e periodontite materna sobre a perda óssea alveolar da prole feminina de ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em odontologia.

Área de concentração: Odontologia

Orientador: Prof. Dr. João Paulo de Arruda Amorim

Coorientadora: Profa. Dra. Sandra Lucinei Balbo

Cascavel-PR
2021

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Garcia, Gabriela Roza

Influência da obesidade e periodontite materna sobre a perda óssea alveolar da prole feminina de ratos / Gabriela Roza Garcia; orientador(a), João Paulo de Arruda Amorim; coorientador(a), Sandra Lucinei Balbo, 2021.
49 f.


Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2021.

1. Obesidade hipotalâmica . 2. Doença periodontal. 3. Programação fetal. 4. DOHaD. I. Amorim, João Paulo de Arruda . II. Balbo, Sandra Lucinei. III. Título.

GABRIELA ROZA GARCIA

Influências da obesidade e periodontite materna sobre a perda óssea alveolar da prole feminina de ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontologia, linha de pesquisa Patologia Aplicada à Clínica Odontológica, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - João Paulo de Arruda Amorim

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Jociéia Thums Konerat

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Ricardo Sampaio de Souza

Universidade Paranaense (UNIPAR)

Cascavel, 25 de fevereiro de 2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu saúde para superar todos os obstáculos durante a minha trajetória.

Agradeço a minha família por todos os esforços e incentivo, por serem essenciais na minha vida para a realização dos meus sonhos. Em especial aos meus pais, meu marido, minha irmã e meus avós, que nunca mediram esforços para o meu bem-estar e todo apoio emocional.

Agradeço a oportunidade de conhecer amigos tão especiais e que foram fundamentais para ajuda e apoio durante este período tão importante da minha vida, em especial a amiga Hellen, pela ajuda e carinho para realizar esta pesquisa.

Agradeço a Clínica Panorâmica, em especial ao Charles, por contribuir com a execução da técnica radiográfica necessária para este trabalho.

Agradeço a todos os professores que de alguma forma participaram da minha vida nesta fase tão especial, e que contribuíram para os meus ensinamentos, em especial a professora Elaine que acompanhou a minha trajetória no laboratório.

Agradeço ao meu orientador professor João pelo privilégio de trabalhar com ele, por todo apoio e paciência ao longo da elaboração da minha pesquisa, por confiar em meu trabalho e me permitir ingressar na carreira científica. Ele sempre será um exemplo de pessoa, bem como de profissional que levarei por toda minha vida.

Também gostaria de deixar um agradecimento especial a instituição de pesquisa UNIOESTE por possibilitar a execução deste trabalho científico.

Influência da obesidade e periodontite materna sobre a perda óssea alveolar da prole feminina de ratos

RESUMO

A programação fetal ou metabólica propõe que o ambiente intrauterino ou o período da infância pode modular o controle fisiológico e a homeostase, aumentando a suscetibilidade a doenças crônicas ao longo da vida. Os mecanismos epigenéticos ligados a essa associação estão envolvidos na programação do desenvolvimento, no contexto das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (DOHaD). Dentre essas doenças temos a obesidade, que é um problema de saúde pública mundial e um fator de risco para diversas doenças, dentre elas, a doença periodontal. O objetivo deste estudo é avaliar os tecidos periodontais da prole feminina de mães obesas submetidas à periodontite experimental. Para tanto, vinte filhotes fêmeas de ratos *Wistar* foram selecionadas, metade dos filhotes recebeu durante os cinco primeiros dias de vida injeções subcutâneas na região cervical de 4g/Kg/dia de glutamato monossódico (grupo MSG, n=10) e a outra metade recebeu injeções de solução salina hiperosmótica, 1,25g/Kg/dia (grupo CTL, n=10). Aos 70 dias de vida, ambos os grupos foram subdivididos em dois (n=5) de acordo com a indução da doença periodontal experimental por ligadura: controle com ligadura (CTL-CL), controle sem ligadura (CTL-SL), MSG com ligadura (MSG-CL) e MSG sem ligadura (MSG-SL). Sete dias após a indução da doença periodontal foram realizados os cruzamentos das ratas CTLs e MSGs com ratos machos controles (1 macho para 2 fêmeas). Após o desmame da prole, as mães foram pesadas e eutanasiadas. A prole (1ª geração – F1) foi então denominada conforme o tratamento dado as mães: CTL-CL-F1, CTL-SL-F1, MSG-CL-F1 e MSG-SL-F1 (todos n=12). Aos 70 dias de vida, 6 animais de cada grupo da prole feminina foram submetidos à ligadura. Ao final do período experimental (100 dias), todos os animais foram pesados e eutanasiados. As mandíbulas foram retiradas, fixadas em formaldeído a 10% por 24h, descalcificadas e processadas para técnicas histológicas e radiológicas. Os filhotes de mães controles com periodontite (CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL) apresentaram aumento significativo do peso corporal e do índice Lee quando comparados com o grupo CTL-SL-F1-SL. Na prole de mães obesas sem doença periodontal (MSG-SL-F1-SL) foi observado maior peso corporal e índice de Lee quando comparados com os filhotes de mães controle sem doença periodontal (CTL-SL-F1-SL). Na histomorfometria dos tecidos gengivais, o grupo MSG-CL-F1-CL apresentou processo inflamatório potencializado no periodonto de proteção em relação ao grupo CTL-CL-F1-CL. Radiograficamente, observou-se que filhotes do grupo MSG-CL-F1-CL apresentaram menor perda óssea alveolar quando comparados com os animais dos grupos MSG-SL-F1-CL ou com o grupo CTL-CL-F1-CL. Os grupos obesos MSG-CL-F1-CL, MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-CL apresentaram aumento significativo de osteócitos e osteoblastos quando comparados com grupos CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL e CTL-SL-F1-CL. Ainda, verificamos que independente da ligadura na prole, os filhotes de mães obesas apresentaram menores áreas de reabsorção radicular. Concluímos que a obesidade e a periodontite materna aumentam a adiposidade e alteram as espessuras do epitélio gengival e do tecido conjuntivo da prole feminina. Além disso, a obesidade hipotalâmica materna, desempenha função protetora, diminuindo a perda óssea alveolar, reduzindo a reabsorção radicular externa e aumentando a quantidade de células ósseas alveolares na prole.

Palavras-chave: Obesidade, doença periodontal, programação fetal, ratos.

Influence of obesity and maternal periodontitis on alveolar bone loss in female rat offspring

ABSTRACT

Fetal or metabolic programming proposes that the intrauterine environment or the period of childhood can modulate physiological control and homeostasis, increasing the susceptibility to chronic diseases throughout life. The epigenetic mechanisms linked to this association are involved in development programming, in the context of the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). Among these diseases we have obesity, which is a worldwide public health problem and a risk factor for several diseases, including periodontal disease. The objective of this study is to evaluate the periodontal tissues of the female offspring of obese mothers submitted to experimental periodontitis. For that, twenty female pups of Wistar rats were selected, half of the pups received during the first five days of life subcutaneous injections in the cervical region of 4g / Kg / day of monosodium glutamate (MSG group, n = 10) and the other half received hyperosmotic saline injections, 1.25g / kg / day (CTL group, n = 10). At 70 days of life, both groups were subdivided into two (n = 5) according to the induction of experimental periodontal disease by ligation: control with ligation (CTL-CL), control without ligation (CTL-SL), MSG with ligation (MSG-CL) and MSG without ligation (MSG-SL). Seven days after induction of periodontal disease, CTLs and MSGs were crossed with male control rats (1 male to 2 females). After weaning offspring, the mothers were weighed and euthanized. The offspring (1st generation - F1) were then named according to the treatment given to the mothers: CTL-CL-F1, CTL-SL-F1-, MSG-CL-F1 and MSG-SL-F1 (all n = 12). At 70 days of age, 6 animals from each group of female offspring were submitted to ligation. At the end of the experimental period (100 days), all animals were weighed and euthanized. The jaws were removed, fixed in 10% formaldehyde for 24 hours, decalcified and processed for histological and radiological techniques. The offspring of control mothers with periodontitis (CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL) showed a significant increase in body weight and the Lee index when compared with the CTL-SL-F1-SL group. In the offspring of obese mothers without periodontal disease (MSG-SL-F1-SL), higher body weight and Lee's index were observed when compared to the offspring of control mothers without periodontal disease (CTL-SL-F1-SL). In the histomorphometry of gingival tissues, the MSG-CL-F1-CL group showed an inflammatory process potentiated in the protection periodontium in relation to the CTL-CL-F1-CL group. Radiographically, it was observed that pups in the MSG-CL-F1-CL group had less alveolar bone loss when compared to animals in the MSG-SL-F1-CL groups or with the CTL-CL-F1-CL group. The obese groups MSG-CL-F1-CL, MSG-CL-F1-SL and MSG-SL-F1-CL showed a significant increase in osteocytes and osteoblasts when compared with groups CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1 -SL and CTL-SL-F1-CL. Still, we found that regardless of the ligature in the offspring, the pups of obese mothers had smaller areas of root resorption. We conclude that maternal obesity and periodontitis increase adiposity and alters the thickness of the gingival epithelium and connective tissue of female offspring. In addition, maternal hypothalamic obesity performs a protective role, decreasing alveolar bone loss, reducing external root resorption and increasing the amount of alveolar bone cells in the offspring.

Keywords: Obesity, periodontal disease, fetal programming, rats.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS	12
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivos Gerais	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Programação fetal e Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (DOHaD)	17
3.2 Obesidade materna	18
3.3 Doença periodontal	19
3.4 Doença periodontal e obesidade	20
4. METODOLOGIA	22
4.1 Delineamento experimental	22
4.1.1 Cálculo amostral	22
4.1.2 Animais	22
4.1.3 Indução da doença periodontal	22
4.1.4 Avaliação da obesidade e da perda óssea alveolar materna	23
4.1.5 Experimentos com a prole feminina obtida (primeira geração – F1) de mães CTL e MSG, com e sem doença periodontal	23
4.2 Coleta do material	24
4.3 Avaliação radiográfica da perda óssea alveolar	24
4.4 Processamento histológico e análise histomorfométrica	24
4.5 Contagem de células ósseas	26
4.6 Análise histomorfométrica da reabsorção radicular externa	26
4.7 Análise estatística	26
5. RESULTADOS	27
5.1. Avaliação da obesidade e da perda óssea alveolar materna	27
5.2 Parâmetros corporais da prole	28
5.3 Análise histológica da hemimandíbula	29

5.4 Histomorfometria dos tecidos gengivais e perda óssea alveolar	31
5.5 Contagem de células ósseas	32
5.6 Análise histomorfométrica da reabsorção radicular	33
6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÃO	38
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
9. ANEXOS	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros corporais e avaliação radiográfica da perda óssea alveolar mandibular das mães dos diferentes grupos experimentais após o desmame

Pág. 27

Tabela 2. Parâmetros corporais da prole feminina dos diferentes grupos experimentais

Pág. 28

Tabela 3. Medidas dos tecidos gengivais e avaliação histomorfométrica e radiográfica da perda óssea alveolar mandibular nos diferentes grupos experimentais da prole feminina

Pág. 31

Tabela 4. Quantificação de células ósseas da crista óssea alveolar nos diferentes grupos experimentais da prole feminina

Pág. 32

Tabela 5. Quantificação da área de reabsorção radicular nos diferentes grupos experimentais da prole feminina

Pág. 33

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Delineamento experimental **Pág. 24**
- Figura 2.** Esquema da gengiva marginal do rato, mostrando os pontos de referência usados para as medidas morfométricas do epitélio oral e tecido conjuntivo **Pág. 25**
- Figura 3.** Fotomicrografia dos tecidos periodontais de animais dos diferentes grupos experimentais **Pág. 30**

LISTA DE ABREVIATURAS

DOHaD - Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença

OMS - Organização Mundial da Saúde

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa

IMC - Índice de massa corporal

MSG - Glutamato monossódico

LPS - Lipopolissacarídeo

IL-1 β - Interleucina-1 beta

IL-6 - Interleucina-6

PCR - Proteína C-reativa

GHRH - Hormônio liberador do hormônio do crescimento

GH - Hormônio do crescimento

ACh - Acetilcolina

HPA - Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

SNA - Sistema nervoso autônomo

TLRs - Receptores Toll-like

DMO - Densidade mineral óssea

RANKL - Ligante do receptor do ativador do fator nuclear Kappa β

1. Introdução

A programação fetal ou programação metabólica tem sido demonstrada em diversos estudos, propondo que o ambiente intrauterino ou durante a infância modula o controle fisiológico e a homeostase, o que pode resultar em aumento da suscetibilidade a doenças crônicas ao longo da vida (LOBATO *et al.*, 2016; MARCINIAK *et al.*, 2017). Desse modo, a nutrição e o estilo de vida materno podem influenciar a saúde dos filhos na vida adulta (KOLETZKO *et al.*, 2011; MALHOTRA *et al.*, 2014; CAMPOS e PALANCH, 2017). Os mecanismos epigenéticos ligados a essa associação estão por trás da programação de desenvolvimento no contexto das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (DOHaD), termo adotado para indicar uma perspectiva mais ampla do período de "origem" que vai além do período pré-natal, e abrange todo o período de desenvolvimento (BIANCO-MIOTTO *et al.*, 2017; SUZUKI, 2017). As pesquisas envolvendo a DOHaD objetivam definir os mecanismos epigenéticos envolvidos na transferência de traços programados no desenvolvimento para as gerações subsequentes, revelando as funções de vários sistemas reguladores, órgãos e tecidos nesta programação (OESTREICH e MOLEY, 2017). Temos assim, forte associação entre obesidade materna e as modificações no crescimento e desenvolvimento fetal, que refletem ao longo da vida do indivíduo (AGARWAL *et al.*, 2018).

Alterações epigenéticas decorrentes da obesidade materna podem predispor os filhos a desenvolver doenças metabólicas na vida adulta, bem como transmitir essa exposição ambiental adversa para as próximas gerações, contribuindo significativamente para a epidemia mundial de doenças metabólicas (HAJJ *et al.*, 2014). Dentre as doenças metabólicas, a obesidade vem atingindo taxas alarmantes em adultos e crianças em todo o mundo, com rápido crescimento e riscos de mortalidade, sendo um problema de saúde pública que desperta cada vez mais a consciência da população (HUANG *et al.*, 2016; AGARWAL *et al.*, 2018). A obesidade resulta da interação de fatores genéticos e ambientais, com prevalência de duas a oito vezes maior em famílias que apresentam indivíduos obesos. A influência genética tem papel fundamental no desenvolvimento da obesidade, podendo ser modificada por fatores ambientais que aumentam ou diminuem o ganho de peso em indivíduos suscetíveis (VALLE *et al.*, 2008). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) as taxas de obesidade apresentaram crescimento contínuo em adultos e crianças em todo o mundo. Cerca de 13% da população adulta mundial tem obesidade e entre crianças e adolescentes ela aumentou quase cinco vezes desde 1975 (OMS, 2016).

Sabe-se que a obesidade é uma condição metabólica crônica e fator de risco para muitas doenças, sendo sua natureza inflamatória amplamente reconhecida (BEZERRA *et al.*, 2007; GOODSON *et al.*, 2009). O tecido adiposo está envolvido com a liberação alterada de diversos fatores inflamatórios, dentre eles o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que possui concentrações sanguíneas elevadas em indivíduos obesos (NISHIMURA *et al.*, 2003; SUVAN *et al.*, 2018). A obesidade também é um fator de risco para hipertensão, dislipidemia, doença coronariana, acidente vascular cerebral, além de estar associada com a periodontite (CULLINAN *et al.*, 2009).

Na periodontite ocorre um processo inflamatório em resposta a antígenos bacterianos presentes devido ao acúmulo de placa e essa indução do infiltrado inicial de células inflamatórias resulta na ativação dos macrófagos para síntese e secreção de citocinas, TNF- α , prostaglandinas e enzimas hidrolíticas, o que geralmente culmina na perda óssea alveolar (ALVES *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2014).

Estudos sugerem que a obesidade e a doença periodontal podem estar associadas, uma vez que o sobrepeso torna o indivíduo mais suscetível a periodontite, devido a maior quantidade de mediadores (MOURA-GREC *et al.*, 2014). De acordo com MACHADO *et al.* (2011) indivíduos obesos podem apresentar maior chance de destruição tecidual na doença periodontal, devido a alterações na imunidade do hospedeiro bem como as altas concentrações de lipídios que auxiliam na exacerbação da resposta inflamatória. Além disso, SUVAN *et al.* (2011) sugerem que indivíduos obesos possuem inflamação local exacerbada e uma possível microflora periodontal alterada.

Frente ao exposto, estudos devem ser desenvolvidos para auxiliar na compreensão da programação fetal, uma vez que a saúde dos pais pode influenciar o estado de saúde dos filhos na vida adulta, quando há exposição a patologias no ambiente intrauterino, como a obesidade e a doença periodontal, durante o período de formação e crescimento fetal, o que pode trazer consequências a longo prazo para o indivíduo.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral:

Avaliar os tecidos periodontais da prole feminina de mães obesas submetidas à periodontite experimental.

2.2. Objetivos específicos:

Investigar se a obesidade associada com a periodontite materna é capaz de influenciar a estrutura do tecido periodontal da prole feminina, através dos seguintes parâmetros:

- Análise da obesidade nas mães e na prole;
- Análise radiográfica da perda óssea alveolar;
- Análise histomorfométrica dos tecidos periodontais;
- Análise histomorfométrica do tecido gengival da mandíbula;
- Quantificação celular de osteoblastos, osteócitos e osteoclastos da mandíbula.

3. Revisão De Literatura

3.1. Programação fetal e Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (DOHaD)

A programação fetal ocorre quando o ambiente ideal em que o feto cresce é interrompido por fatores hostis, especialmente durante períodos críticos de desenvolvimento de órgãos essenciais. Uma vez que ocorrem mudanças, o fenótipo se torna permanente e pode determinar o início de futuros problemas de saúde. A correlação entre estresse intrauterino e efeitos na prole foi confirmada para doenças como síndromes atópicas, incluindo dermatite e asma, maior vulnerabilidade a infecções, disfunção metabólica, doenças cardiovasculares e câncer (NERI e EDLOW, 2015; MARCINIAK *et al.*, 2017).

Sabe-se que a programação é afetada pelo estado de saúde materno e seu comportamento durante a gravidez através de vários mecanismos, como por exemplo o estresse oxidativo. Este aumenta a geração de radicais livres, os quais têm sido associados à diabetes, inflamação pré-natal e eventos hipóxicos. Esta teoria condiz com o conceito de plasticidade do desenvolvimento, ou seja, a capacidade de um genótipo originar diferentes estados morfológicos ou fisiológicos em resposta a exposições distintas, cuja adaptação é possível apenas durante um período crítico do desenvolvimento, no caso a vida intrauterina para a maioria dos órgãos e sistemas. Com isso, o risco individual da doença é determinado pela interação de vários fatores, que incluem genes de suscetibilidade à doença, ambiente intrauterino adverso, estilo de vida de risco no adulto (dieta, sedentarismo, tabaco) e envelhecimento (SECO e MATIAS, 2009; WHITEMAN *et al.*, 2017).

Neste cenário, temos o conceito de DOHaD, que está influenciando muitos campos de pesquisa uma vez que sua área de estudo tem focado nos mecanismos epigenéticos envolvidos com a programação de desenvolvimento, a qual refere-se a como os eventos no início da vida ou durante o desenvolvimento de um determinado órgão pode programar o indivíduo para um risco aumentado a doenças crônicas. Este paradigma provavelmente se aplica para todas as espécies ao longo das gerações e está se tornando importante para melhorar a saúde pública e bem-estar, para que futuramente essas informações epigenéticas possam ser utilizadas como biomarcadores afim de identificar indivíduos com risco aumentado a determinadas doenças de forma que medidas precoces sejam tomadas (BIANCO-MIOTTO *et al.*, 2017; SUZUKI, 2017).

Com a crescente carga global da obesidade cria-se um novo conjunto de preocupações para o feto em desenvolvimento. Observa-se que a obesidade materna constitui um grave risco para a saúde da mãe e do filho, com impacto que aumenta com o grau de obesidade. Isso

contribui não só para o desenvolvimento fetal anormal, mas para o aumento da morbidade e mortalidade neonatal, durante a infância, adolescência e na idade adulta (NOGUEIRA e CARREIRO, 2013).

3.2. Obesidade materna

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define sobrepeso e obesidade como acúmulo anormal ou excessivo de gordura, que pode prejudicar a saúde, e utiliza o índice de massa corporal (IMC) para classificar sobrepeso e obesidade em adultos. O IMC é definido como o peso da pessoa em quilogramas dividido pelo quadrado da sua altura em metros ($\text{kg}/\text{h}^2_{(\text{m})}$). A obesidade é caracterizada quando o IMC se encontra acima de $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ (OMS, 2018). Na gravidez, o IMC é calculado usando o peso pré-gestante ou, se isso for desconhecido, o primeiro peso medido no pré-natal (ANDREASEN *et al.*, 2004).

Há consideráveis comprovações de que as complicações da obesidade materna se estendem para além da vida intrauterina e neonatal, chegando à idade adulta, acarretando uma série de problemas ao longo da vida. A obesidade materna constitui um risco para a obesidade infantil, independentemente do peso ao nascer, assim como para o surgimento da síndrome metabólica e doença cardiovascular (NOGUEIRA e CARREIRO, 2013).

Para pesquisas de associações entre estado de saúde materna e desenvolvimento de doenças na prole, modelos de roedores são úteis pois a ordem e o momento do desenvolvimento de órgãos fetais, incluindo o pâncreas e o coração, se aproximam do desenvolvimento de órgãos humanos (AGARWAL *et al.*, 2018).

Estudos com modelos de obesidade materna em roedores demonstram piores desfechos na prole em relação à resposta para infecção bacteriana e autoimunidade experimentalmente induzida. Nos seres humanos, a obesidade materna também afeta a maturação e desenvolvimento do sistema imunológico do neonato, com influências adversas na frequência e função das principais células imunes inatas e adaptativas, medido no sangue do cordão umbilical (GODFREY *et al.*, 2016).

A obesidade pode ser induzida em animais por meio de alterações neuroendócrinas, dietéticas ou genéticas. O modelo MSG leva o animal ao desenvolvimento da obesidade na vida adulta, através do tratamento neonatal com glutamato monossódico (MSG), sem causar hiperfagia e nem hiperglicemia nos animais (VON DIEMEN *et al.*, 2006; BALBO *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2012; MATTIA *et al.*, 2017; COLTRI *et al.*, 2017). Nele, a degeneração hipotalâmica aguda se dá através da lesão de células neurais do núcleo arqueado e eminência média do hipotálamo por altas doses de glutamato monossódico, cruciais para a regulação da

homeostase metabólica, incluindo a ação e secreção da insulina, o que faz aumentar os níveis de glicose no sangue em jejum, levando à diabetes mellitus do tipo II (BAUTISTA *et al.*, 2019).

Neste contexto, uma dessas preocupações que se estende para além da vida intrauterina, abrange a inter-relação entre obesidade e periodontite, uma vez que o sobrepeso pode tornar o indivíduo mais suscetível a ela devido aos mediadores inflamatórios frente à saúde sistêmica e, ainda, causar uma inflamação local exacerbada e uma possível microflora periodontal alterada. (SUVAN *et al.*, 2011; MOURA-GREC *et al.*, 2014).

3.3. Doença periodontal

O periodonto, além de inserir os dentes no tecido ósseo dos maxilares, mantém a integridade dos tecidos mastigatórios (gengiva, ligamento periodontal, cimento radicular e osso alveolar) (LINDHE *et al.*, 2005). Este último é composto majoritariamente por colágeno, sialoproteínas, osteopoetinas e proteoglicanos (ALVES *et al.*, 2007).

As estruturas de suporte podem ser comprometidas pelo acúmulo de biofilme dental que causa gengivite e periodontite, em decorrência da resposta do hospedeiro através da formação de um infiltrado de células inflamatórias (ARAÚJO e SUKEKAVA, 2007; HASTURK *et al.*, 2012). Na periodontite (inflamatória crônica), mais comum em adultos, a resposta inflamatória resulta em perda óssea alveolar e, de acordo com a gravidade da doença, na perda dos dentes (MOURA-GREC *et al.*, 2014). Diferentemente das superfícies corpóreas constantemente renovadas através da descamação celular, os dentes possibilitam o acúmulo de biofilme e, quando há perda da homeostase entre a imunidade e microorganismos, juntamente aos fatores genéticos, hormonais e comportamentais do hospedeiro, a doença periodontal pode se desenvolver (LINDHE *et al.*, 2005).

A tríade de bactérias anaeróbicas *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* tradicionalmente considerada como fator causal da periodontite com base em sua virulência e forte associação com sítios doentes é hoje substituída por um modelo de microbiota diversificada, em que os danos ao periodonto não mais derivam de patógenos individuais, mas sim de polimicrobianos em sinergia e disbiose, que perturbam o biofilme ecologicamente balanceado (HAJISHENGALLIS, 2015).

Uma microbiota bucal disbiótica é rica em fatores de virulência e adaptada ao ambiente inflamatório. O habitat predominante das bactérias associadas à periodontite é o sulco gengival, rico em mediadores imunes e inflamatórios. Na periodontite, a resposta imune do hospedeiro é desregulada por dois fatores: subversão pela comunidade microbiana ou defeitos imunorregulatórios do hospedeiro, não restringindo o crescimento bacteriano e patogenicidade

da doença (HAJISHENGALLIS, 2015). Além disso, a eficácia da resposta imune pode ser reduzida pela estimulação da bactéria *Porphyromonas gingivalis*, favorecendo a proliferação de outras espécies e exacerbando a resposta inflamatória nos tecidos orais. O lipopolissacarídeo (LPS) encontrado nesta bactéria bloqueia a expressão de E-selectina, uma molécula de adesão necessária para saída eficiente de leucócitos da corrente sanguínea. Além disso, sua ação pode levar a redução da atividade indutora de citocinas em monócitos, bloqueio da capacidade de resposta de células endoteliais e epiteliais a outras bactérias combinado com a fraca ativação de células mieloides. A ausência de uma barreira de defesa de leucócitos eficaz, faz com que o número de bactérias de múltiplas espécies aumente significativamente na periodontite (BAINBRIDGE e DARVEAU, 2001; ANDRADE *et al.*, 2019).

Com respeito a resposta inflamatória do hospedeiro, a mesma é mediada principalmente por neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos T e B e resulta na produção de mediadores (citocinas, quimiocinas, enzimas proteolíticas, interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e TNF- α que promovem a degradação tecidual e reabsorção óssea (LIRA-JUNIOR e FIGUEREDO, 2016). Quando avançada, há perda irreversível do ligamento periodontal e do osso, com aumento progressivo da formação de bolsa (HASAN e PALMER, 2014).

Considerando que doenças inflamatórias sistêmicas podem interromper o equilíbrio hospedeiro-microbiota oral, sugeriu-se que a inflamação sistêmica presente em indivíduos obesos afetaria a suscetibilidade a periodontite, dentre outras doenças infecciosas crônicas (SANTOS *et al.*, 2014; CORRÊA *et al.*, 2019).

3.4. Doença periodontal e obesidade

A obesidade, condição adquirida de forma mediata por um período de acúmulo de comportamentos de risco, é aceita como doença inflamatória crônica de baixo grau associada a distúrbios metabólicos e representa um grande problema de saúde pública. O excesso de peso aumenta o risco de doenças crônicas incluindo diabetes tipo II, hipertensão, doenças cardiovasculares, asma e certas formas de câncer. Pode, ainda, influenciar o início e a progressão da doença periodontal (CHAFFEE e WESTON, 2010). Além de seus papéis no armazenamento de energia e como órgão endócrino, o tecido adiposo é cada vez mais reconhecido como um importante órgão imunológico (GOMES *et al.*, 2012; STOLARCZYK, 2017).

A associação entre obesidade e doença periodontal foi relatada pela primeira vez em animais por PERLSTEIN e BISSADA (1977), os quais encontraram maior perda óssea alveolar em ratos obesos comparados a ratos não obesos submetidos a ligadura como forma de indução

da periodontite. Já em humanos, SAITO *et al.* (1998) indicaram que o padrão de distribuição de gordura está associado com agravamento da periodontite, notado pelas bolsas periodontais profundas (JAGANNATHACHARY e KAMARAJ, 2010; MARTINEZ-HERRERA *et al.*, 2017).

Desde então, vários estudos demonstraram a obesidade como fator de risco para periodontite, devido a uma inflamação de baixo grau causada pelo tecido adiposo que gera significativas alterações na condição oral (BEZERRA *et al.*, 2007; MOURA-GREC *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2014).

GENCO *et al.* (2005) demonstraram que O IMC foi positivamente correlacionado com a gravidade da doença periodontal e a perda de óssea alveolar. Dados epidemiológicos mostram que pacientes obesos e resistentes à insulina apresentam concentrações plasmáticas elevadas de marcadores inflamatórios. A grande diversidade de células do tecido adiposo o torna um órgão imunológico capaz de ligar metabolismo e imunidade, secretando grandes quantidades de TNF- α e IL-6, proporcionais ao IMC (COLTRI *et al.*, 2017; STOLARCZYK, 2017).

A inflamação sistêmica é gerada por uma série de hormônios e citocinas produzidas pelo tecido adiposo. O TNF- α (uma das primeiras citocinas pró-inflamatórias induzidas pelos patógenos da periodontite) e a IL-6 estimulam a produção hepática de reagentes da fase aguda, como a proteína C-reativa (PCR) e causam alterações na resposta imune do hospedeiro, resultando em maior suscetibilidade à infecção bacteriana. O TNF- α , em especial, contribui para o aparecimento da periodontite por estímulo na formação de osteoclastos, induzindo destruição óssea alveolar e degradação do tecido conjuntivo (CULLINAN *et al.*, 2009; JAGANNATHACHARY e KAMARAJ, 2010; MARTINEZ-HERRERA *et al.*, 2017).

4. Metodologia

4.1. Delineamento experimental

4.1.1. Cálculo amostral

Uma amostra de 20 ratas mães (n=5/grupo) e 48 filhas (n=6/grupo) foi calculada considerando as variáveis obesidade e doença periodontal, com α de 5% e poder de 80% (GPower 3.1 software, Universidade de Düsseldorf, FAUL *et al.*, 2007 e 2009).

4.1.2. Animais

No delineamento experimental foram utilizadas vinte fêmeas de ratos da variedade *Wistar*, destas, dez receberam durante os cinco primeiros dias de vida injeções subcutâneas na região cervical de 4g/Kg/dia de glutamato monossódico para o desenvolvimento da obesidade (grupo MSG, n=10), no mesmo período, 10 filhotes receberam injeções de solução salina hiperosmótica, 1,25g/Kg/dia (grupo CTL, n=10). Os animais foram mantidos no Biotério Setorial do Laboratório de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS da mesma Universidade durante o experimento. Elas, foram adaptadas e mantidas em gaiolas coletivas de polietileno (43x30x15), individualmente ou em duplas, sob condições controladas de temperatura (22° e 25° C), umidade relativa (próxima de 55%) e fotoperíodo de 12 horas (período de luz 7:00 - 19:00h). Os animais receberam ração e água *ad libitum*. Os procedimentos experimentais estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso Animais (CEUA) da UNIOESTE (anexo).

4.1.3. Indução da doença periodontal

Aos 70 dias de vida, 5 animais de cada grupo foram submetidos à doença periodontal experimental. Para isso foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Ketamina (75 mg/Kg) e xilazina (15 mg/Kg). Em seguida, os animais foram posicionados em mesa operatória apropriada, a qual permitiu a manutenção da abertura bucal dos ratos facilitando o acesso aos dentes da região posterior da mandíbula. Com o auxílio de uma pinça modificada e de uma sonda exploradora, foi colocado um fio de algodão número 40, ao redor do primeiro molar inferior direito e esquerdo. Esta ligadura atuou como irritante gengival e favoreceu o acúmulo de placa bacteriana (NASSAR *et al.*, 2009). Após a indução da doença periodontal os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: controle com ligadura n=5 (CTL-CL),

controle sem ligadura n=5 (CTL-SL), MSG com ligadura n=5 (MSG-CL) e MSG sem ligadura n=5 (MSG-SL).

Sete dias após a indução da doença periodontal foram realizados os cruzamentos das ratas CTLs e MSGs com ratos controles não obesos, na proporção de um macho para duas fêmeas. Na manhã subsequente ao acasalamento foram colhidos lavados vaginais e a presença de espermatozoides foi utilizada como fator indicativo de prenhez.

4.1.4. Avaliação da obesidade e da perda óssea alveolar materna

Após o desmame da prole, as mães foram pesadas e eutanasiadas por decapitação. Para confirmação da instalação da obesidade materna foi calculado o índice de Lee [raiz cúbica do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm)], associado a mensuração dos depósitos de gorduras perigonadal e retroperitoneal.

Para verificar o sucesso da indução da periodontite experimental as hemimandíbulas esquerdas foram retiradas e radiografadas por um único examinador treinado utilizando aparelho de Raio-x odontológico da marca KaVo – FOCUS, 70 kV/60 mA, com placa de fósforo do tamanho periapical, tempo de exposição de 0,125s e distância focal de 5 cm. A leitura da placa foi realizada pela reveladora da marca KaVo – Express e as imagens obtidas analisadas no programa Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD – USA). Foram realizadas três medidas entre a distância da crista óssea alveolar vestibular até a junção cimento-esmalte do primeiro molar (NASSAR *et al.*, 2009; GIRELLI *et al.*, 2017).

4.1.5. Experimentos com a prole feminina obtida (primeira geração – F1) de mães CTL e MSG, com e sem doença periodontal

Aos 21 dias de vida a prole feminina obtida do cruzamento (primeira geração – F1) foi designada conforme o tratamento das mães em: 1) CTL-CL-F1 (n=12), 2) CTL-SL-F1 (n=12), 3) MSG-CL-F1 (n=12) e 4) MSG-SL-F1 (n=12).

Aos 70 dias de vida, 6 animais de cada grupo da prole feminina foram submetidos à indução da doença periodontal por 30 dias (NASSAR *et al.*, 2009; GIRELLI *et al.*, 2017).

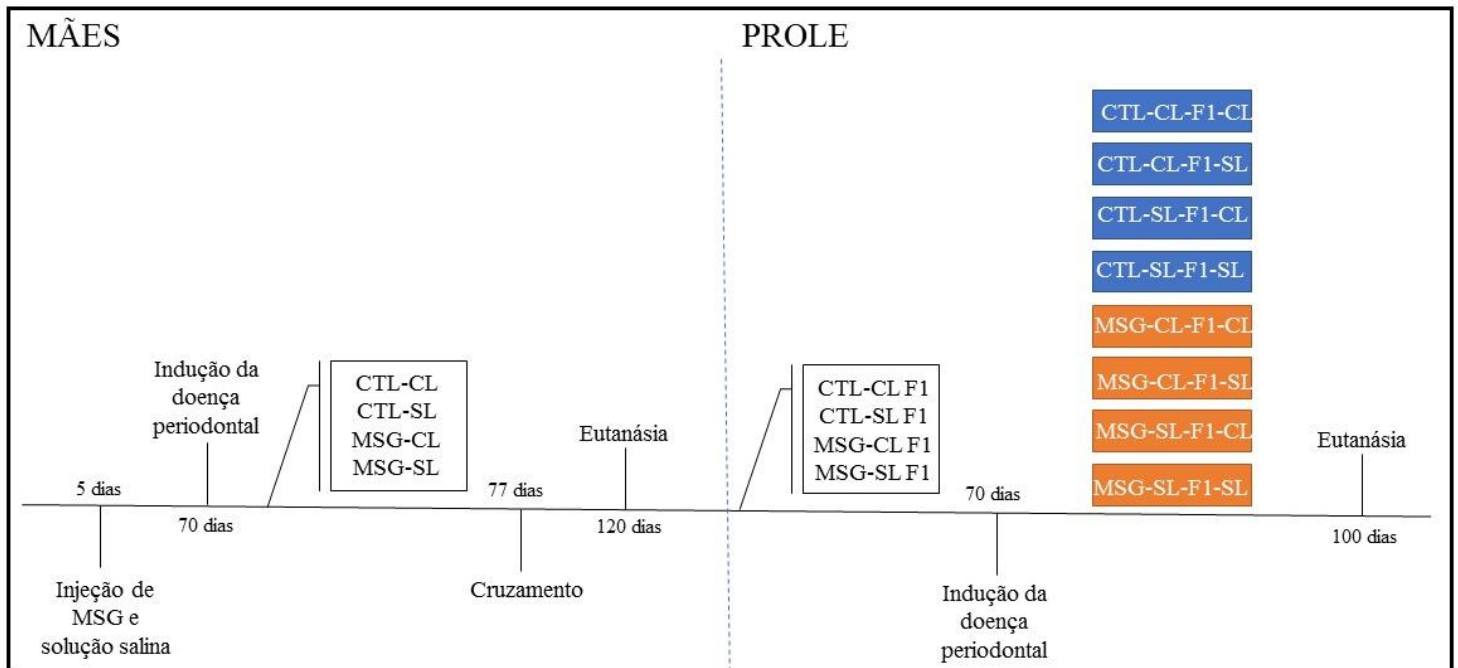


Figura 1. Delineamento experimental.

4.2. Coleta do material

Ao final do período experimental (100 dias), todos os animais foram pesados e eutanasiados por decapitação. A mandíbula foi retirada, seccionada sagitalmente e separada em hemimandíbula direita e esquerda. Estas foram fixadas em formalina tamponada a 10% por 24 horas, lavadas em água corrente por 48h e estocadas em álcool 70%.

4.3. Avaliação radiográfica da perda óssea alveolar da prole

As hemimandíbulas esquerdas foram radiografadas por um único examinador treinado, em dois dias alternados, utilizando aparelho de Raio-x odontológico da marca KaVo – FOCUS, 70 kV/60 mA, com placa de fósforo do tamanho periapical, tempo de exposição de 0,125s e distância focal de 5 cm. A leitura da placa foi realizada pela reveladora da marca KaVo – Express. As mensurações da perda óssea alveolar seguiram os mesmos critérios citados no item 4.1.4 (NASSAR *et al.*, 2009; GIRELLI *et al.*, 2017).

4.4. Processamento histológico e análise histomorfométrica

As hemimandíbulas direitas foram descalcificadas em solução de ácido descalcificante (Allkimia®) por 19 horas e estocadas em álcool 70°. Posteriormente as amostras foram desidratadas em série crescente de álcoois, diafanizada em xilol e incluídas em Paraplast. Para

as análises histomorfométricas, foram realizados cortes no plano coronal, sentido de mesial para distal (ântero-posterior), com 5µm de espessura, utilizando micrótomo rotativo manual (Olympus 4060), equipado com navalha de aço. Os cortes obtidos foram desparafinizados com xilol, hidratados com água destilada e submetidos à técnica de coloração: hematoxilina-eosina (HE) para análise. As secções histológicas foram fotografadas no aumento de 100x, em microscópio Olympus BX60 equipado com câmera digital Olympus DP71 e software DP Controller 3.2.1.276 e analisadas pelo programa Image Pro-Plus 4.1.

Para quantificação histológica da perda óssea alveolar, foi realizada uma medida da menor distância entre o ápice da crista óssea alveolar vestibular e a junção cimento-esmalte do primeiro molar inferior direito. As medidas foram repetidas duas vezes por dia, em três dias diferentes, e então foi feito a média entre os valores (NASSAR *et al.*, 2009; GIRELLI *et al.*, 2017).

As análises da área do epitélio gengival e do tecido conjuntivo subjacente foram realizadas conforme descrito em STEFFENS *et al.* (2012). Quatro medidas foram realizadas: altura e largura do epitélio gengival, altura e largura do tecido conjuntivo. O cálculo da área foi realizado multiplicando a altura e largura das respectivas regiões. As mensurações foram feitas a partir de pontos morfológicos pré-determinados de acordo com a figura 2.

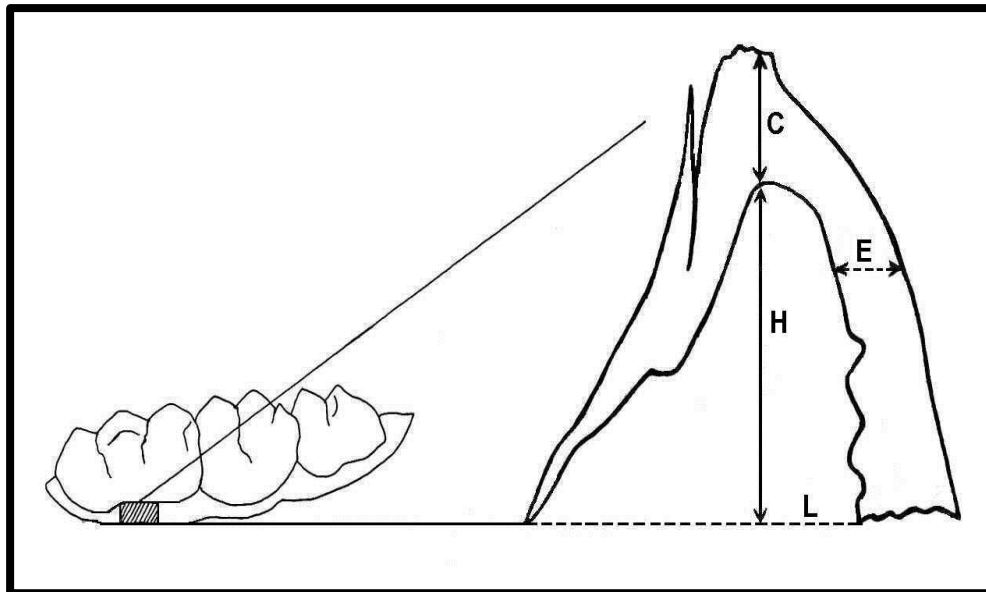


Figura 2. Esquema da gengiva marginal do rato, mostrando os pontos de referência usados para as medidas morfométricas do epitélio oral e tecido conjuntivo. C- Altura do epitélio da crista gengival; E – Largura do epitélio oral; H - Altura do tecido conjuntivo na região média; L - Largura do tecido conjuntivo na região basal.

4.5. Contagem de células ósseas

A quantificação de osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, foi realizada em cinco campos microscópicos consecutivos da crista óssea alveolar vestibular partindo do ponto mais alto da crista. Para a observação foi utilizado microscópio Olympus (aumento de 400X). Foram feitas duas observações por campo, e então, feito a média dos valores para cada animal e para cada grupo.

4.6. Análise histomorfométrica da reabsorção radicular externa

Para análise quantitativa da reabsorção radicular externa, foram realizadas fotomicrografias com aumento de 400X e analisadas no programa Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD – USA), onde foi quantificada a área total de cada reabsorção em micrômetros quadrados (μm^2).

Cada medida foi realizada três vezes para se obter a média de cada um dos valores. Quando a raiz apresentava mais de uma área de reabsorção radicular externa, as áreas foram somadas para se obter a área total de reabsorção por animal.

4.7. Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizado o teste estatístico de análise de variância (ANOVA-One Way), com pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. As análises estatísticas e os gráficos foram realizados no programa SigmaPlot versão 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

5. Resultados

5.1. Avaliação da obesidade e da perda óssea alveolar materna

Na análise dos parâmetros corporais maternos, foi observado que o peso corporal e o comprimento naso-anal foram reduzidos nas mães dos grupos MSG-SL e MSG-CL quando comparados as mães dos grupos controles. Porém, as mães MSGs apresentaram aumento do índice de Lee e aumento dos depósitos de gorduras retroperitoneal e perigonadal quando comparados aos animais dos grupos controles ($P<0,05$), comprovando a instalação da obesidade decorrente do tratamento neonatal com glutamato monossódico. Na comparação intragrupo, verificamos que a doença periodontal não interferiu na quantidade dos depósitos de gordura (tabela 1).

Na análise radiográfica do osso alveolar das mães, verificamos que houve maior perda óssea alveolar nos grupos com doença periodontal induzida por ligadura (CTL-CL e MSG-CL) ($P<0,05$), com maior perda óssea alveolar nas mães CTL-CL ($P<0,05$) (tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros corporais e avaliação radiográfica da perda óssea alveolar mandibular das mães dos diferentes grupos experimentais após o desmame.

PARÂMETROS	MÃE CTL-SL	MÃE CTL-CL	MÃE MSG-SL	MÃE MSG-CL
Peso (g)	247,25±5,1 ^a	256,67±4,7 ^a	204,62±5,1 ^b	210,39±6,1 ^b
CNA (cm)	19,3±0,2 ^a	19,1±0,3 ^a	17,1±0,2 ^b	17,4±0,3 ^b
Índice de Lee	325,20±3,1 ^a	332,73±4,1 ^a	349,5±6,2 ^b	352,7±4,9 ^b
Gord. Retroperitoneal (g/100g)	0,7±0,07 ^a	0,7±0,06 ^a	1,3±0,3 ^b	1,2±0,7 ^b
Gord. perigonadal (g/100g)	1,13±0,3 ^a	1,22±0,2 ^a	2,2±0,3 ^b	2,3±0,4 ^b
Distância JCE-COA (pixels)	82,56±3,19 ^a	155,07±8,08 ^b	75,59±2,51 ^a	131,73±6,28 ^c

Valores expressos em média ± erro padrão. SL= sem ligadura. CL= com ligadura. JCE= junção cimento-esmalte. COA= crista óssea alveolar. N= 5 animais/grupo. Análise de variância – ANOVA, com pós-teste de Tukey. Na mesma linha, valores seguidos de letras diferentes^{a,b,c} indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($P<0,05$).

5.2. Parâmetros corporais da prole

Na análise intragrupo, os filhotes de mães controles com periodontite (CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL) apresentaram aumento significativo do peso corporal e do índice Lee quando comparados com o grupo CTL-SL-F1-SL ($P<0,05$), nos grupos descendentes de mães obesas, os filhotes que não receberam a ligadura (MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-SL) apresentaram maior ganho de peso corporal, quando comparados aos filhotes que receberam ligadura MSG-SL-F1-CL ($P<0,05$). Na análise intergrupos, a prole de mães obesas sem doença periodontal (MSG-SL-F1-SL) apresentou maior peso corporal e índice de Lee quando comparados com os filhotes de mães controle sem doença periodontal (CTL-SL-F1-SL) ($P<0,05$) (tabela 2), evidenciando a interferência da obesidade materna sobre o peso corporal da prole.

Na análise dos depósitos de gorduras, os grupos CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL e CTL-SL-F1-CL apresentaram maiores depósitos de gordura retroperitoneal e perigonadal quando comparados com o grupo sem interferência da doença periodontal (CTL-SL-F1-SL) ($P<0,05$). Comparando todos os grupos, verificamos que os filhotes dos grupos CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL e CTL-SL-F1-CL apresentaram maiores depósitos de gorduras quando comparados com os filhotes de mães obesas submetidas as mesmas condições experimentais (MSG-CL-F1-CL, MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-CL) ($P<0,05$) (tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros corporais da prole feminina dos diferentes grupos experimentais.

PARÂMETROS	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
	CTL-CL-F1-CL	CTL-CL-F1-SL	CTL-SL-F1-CL	CTL-SL-F1-SL	MSG-CL-F1-CL	MSG-CL-F1-SL	MSG-SL-F1-CL	MSG-SL-F1-SL
Peso (g)	250,66 ±2,26 ^a	251,33 ±2,38 ^a	241,66 ±3,10 ^{ab}	234,50 ±2,31 ^b	244,33 ±2,55 ^{ab}	254,66 ±3,68 ^{ac}	236,66 ±3,86 ^b	253,83 ±3,40 ^{ac}
CNA (cm)	20,66 ±0,09 ^a	20,50 ±0,09 ^a	20,71 ±0,18 ^a	20,75 ±0,11 ^a	20,11 ±0,17 ^a	20,66 ±0,21 ^a	20,16 ±0,19 ^a	20,31 ±0,11 ^a
Índice de Lee	305,11 ±1,56 ^a	307,88 ±0,98 ^a	300,75 ±1,55 ^{ab}	295,73 ±1,90 ^b	311,03 ±2,57 ^{ac}	307,91 ±1,67 ^a	306,67 ±1,04 ^a	311,63 ±2,09 ^{ac}
Gord. Retroperitoneal (g/100g)	0,53 ±0,02 ^a	0,54 ±0,04 ^a	0,42 ±0,02 ^b	0,42 ±0,02 ^b	0,43 ±0,03 ^b	0,42 ±0,04 ^b	0,48 ±0,03 ^a	0,44 ±0,01 ^b
Gord. perigonadal (g/100g)	0,55 ±0,04 ^a	0,52 ±0,02 ^a	0,49 ±0,02 ^a	0,35 ±0,02 ^b	0,46 ±0,02 ^{ac}	0,41 ±0,02 ^{bc}	0,37 ±0,02 ^b	0,43 ±0,01 ^{bc}

Valores expressos em média ± erro padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância – ANOVA, com pós-teste de Tukey. Na mesma linha, valores seguidos de letras diferentes^{a,b,c} indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($P<0,05$).

5.3. Análise histológica da hemimandíbula

Na avaliação histológica dos filhotes sem doença periodontal (CTL-CL-F1-SL, CTL-SL-F1-SL, MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-SL) a análise histológica revelou que os epitélios oral, juncional e sulcular e o tecido conjuntivo subjacente, apresentaram características morfológicas normais (Figura 3-A, B), observamos que os filhotes descendentes de mães com doença periodontal apresentavam epitélio gengival e tecidos conjuntos mais espessos, porém dentro da normalidade. As cristas ósseas estavam espessas e com formato regular a nível do terço cervical da raiz, e a porção esponjosa central do osso alveolar apresentou aspecto de normalidade (Figura 3-B). É possível notar que na região da crista óssea alveolar os osteoblastos formam um revestimento na periferia óssea e os osteócitos se mantêm presentes na região central do osso (Figura 3-C).

Na análise morfológica do periodonto dos filhotes com doença periodontal, os grupos CTL-CL-F1-CL, CTL-SL-F1-CL, MSG-CL-F1-CL e MSG-SL-F1-CL apresentaram epitélios oral, juncional e sulcular com aspecto inflamatório e características morfológicas anormais (Figura 3-D, E) e tecido conjuntivo subjacente com infiltrado inflamatório (Figura 3-F), com condição inflamatória mais acentuada nos grupos descendentes de mães com doença periodontal ou obesidade.

A crista óssea apresentou formato irregular e a perda óssea alveolar levou a exposição do terço cervical do dente, principalmente nos animais controles (Figura 3-D). As linhas incrementais estavam presentes nas imagens ósseas de todos os grupos (Figura 3- C, G). Notou-se a presença acentuada de osteoclastos indicando atividade de reabsorção (Figura 3-G).

Todos os grupos apresentaram reabsorção radicular externa com maior incidência nos animais dos grupos CTLs com ligadura (Figura 3-H).

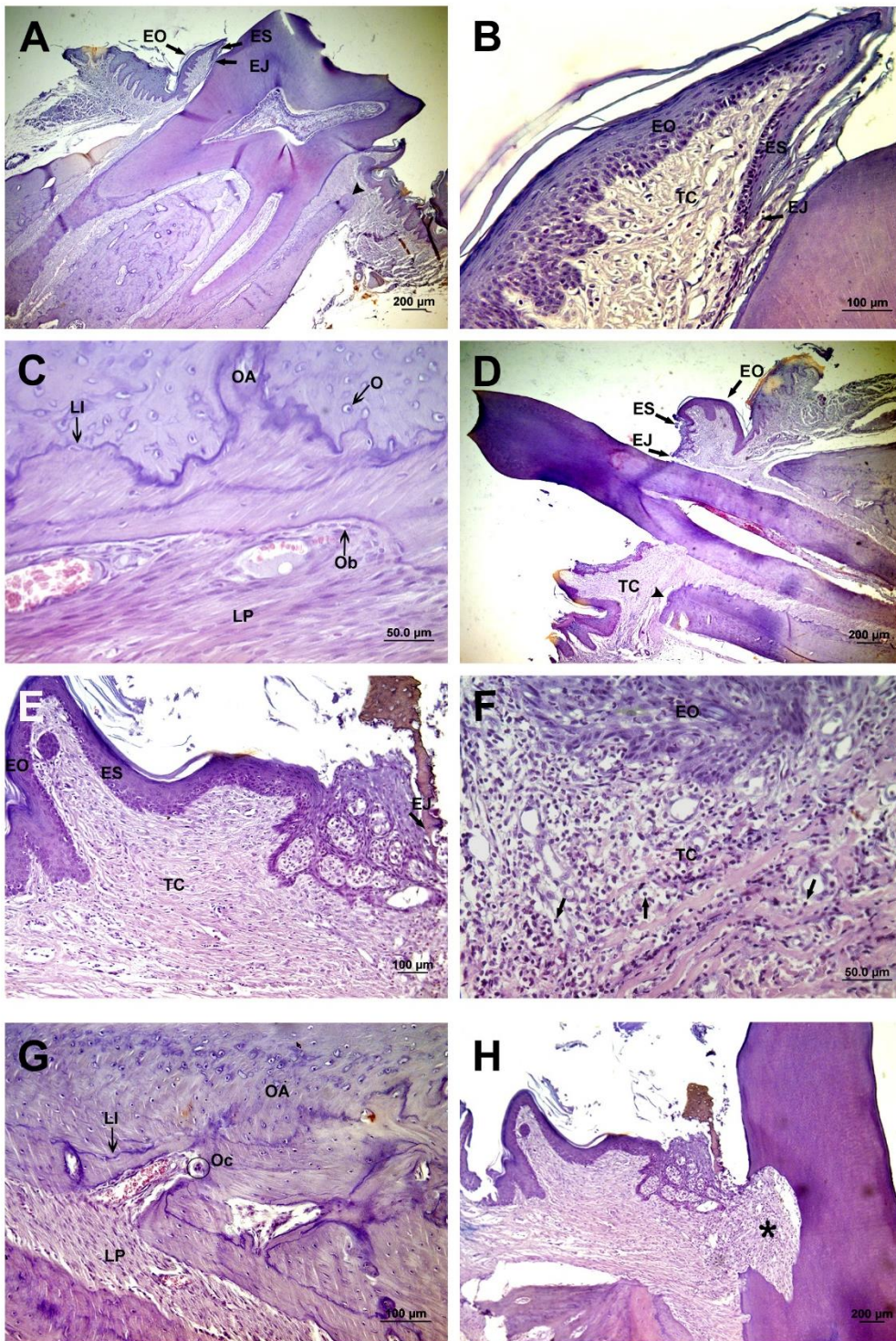


Figura 3. Fotomicrografia dos tecidos periodontais de animais dos diferentes grupos experimentais. A e B. Tecidos periodontais com aspecto normal. Epitélio oral (EO), epitélio sulcular (ES), epitélio juncional (EJ), tecido conjuntivo (TC), crista óssea alveolar (cabeça de seta); C. Células ósseas da crista óssea alveolar em condições normais. Osteoblastos (Ob), osteócitos (O), osso alveolar (AO), ligamento periodontal (LP), linhas incrementais (LI); D e E. Tecidos periodontais com aspecto inflamatório. Epitélio oral (EO), epitélio sulcular (ES), epitélio juncional (EJ), tecido conjuntivo (TC), crista óssea alveolar (cabeça de seta); F. Tecido conjuntivo subjacente com processo inflamatório. Epitélio oral (EO), tecido conjuntivo (TC), presença de linfócitos (setas); G. Áreas de reabsorção óssea. Osteoclastos (Oc), osso alveolar (AO), ligamento periodontal (LP), linhas incrementais (LI); H. Reabsorção radicular externa (asterisco); Coloração= Hematoxilina e Eosina.

5.4. Histomorfometria dos tecidos gengivais e perda óssea alveolar

Na análise morfométrica dos tecidos periodontais da prole feminina dos grupos controles, o grupo CTL-CL-F1-CL apresentou maiores áreas de epitélio gengival e tecido conjuntivo, quando comparados com os filhotes do grupo CTL-SL-F1-CL ($P<0,05$), evidenciando a interferência da doença periodontal materna na prole feminina. A mesma interferência foi observada na comparação entre os grupos de mães obesas com periodontite (MSG-CL-F1-CL e MSG-CL-F1-SL), que apresentaram maiores área de epitélio gengival e conjuntivo quando comparados com os grupos de mães sem periodontite (MSG-SL-F1-CL e MSG-SL-F1-SL) ($P<0,05$). Além disso, quando comparamos o grupo MSG-CL-F1-CL com o grupo CTL-CL-F1-CL verificamos que a obesidade materna potencializou o processo inflamatório no periodonto de proteção da prole feminina, resultando em maiores área de epitélio gengival e tecido conjuntivo ($P<0,05$ (Tabela 3).

Na análise morfométrica e radiográfica do osso alveolar da prole feminina, verificou-se que houve maior perda óssea alveolar ($P<0,05$) nos grupos CTLs e MSGs com indução da doença periodontal. Entretanto, verificamos que os filhotes do grupo MSG-CL-F1-CL apresentaram menor perda óssea alveolar quando comparados com os animais dos grupos MSG-SL-F1-CL ou com o grupos CTL-CL-F1-CL, evidenciando um fator protetor da obesidade e/ou da periodontite materna sobre o osso alveolar da prole ($P<0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Medidas dos tecidos gengivais e avaliação histomorfométrica e radiográfica da perda óssea alveolar mandibular nos diferentes grupos experimentais da prole feminina.

PARÂMETROS	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
	CTL-CL-F1-CL	CTL-CL-F1-SL	CTL-SL-F1-CL	CTL-SL-F1-SL	MSG-CL-F1-CL	MSG-CL-F1-SL	MSG-SL-F1-CL	MSG-SL-F1-SL
Área do epitélio gengival (μm^2)	8587,64 $\pm 368,61^a$	3379,55 $\pm 282,02^b$	5442,38 $\pm 120,47^c$	2823,00 $\pm 171,46^b$	12758,29 $\pm 1013,73^d$	4176,95 $\pm 627,73^c$	7207,20 $\pm 340,43^a$	2457,10 $\pm 263,18^b$
Área do tecido conjuntivo (μm^2)	466337,00 $\pm 26939,68^a$	193445,50 $\pm 12258,81^b$	504452,50 $\pm 30692,65^{ac}$	237982,69 $\pm 22629,00^b$	580878,96 $\pm 36555,87^c$	262309,08 $\pm 14539,27^b$	462904,15 $\pm 27740,85^a$	243534,89 $\pm 6696,94^b$
Distância JCE-COA (μm)	1243,90 $\pm 42,79^a$	674,91 $\pm 14,85^b$	1258,22 $\pm 49,77^a$	514,94 $\pm 13,29^b$	1064,42 $\pm 46,62^c$	652,24 $\pm 13,08^b$	1379,00 $\pm 61,09^a$	611,17 $\pm 9,14^b$
Distância JCE-COA (pixels)	113,93 $\pm 9,04^a$	69,84 $\pm 2,60^b$	125,80 $\pm 7,74^a$	66,12 $\pm 6,48^b$	121,24 $\pm 8,64^a$	75,88 $\pm 5,05^b$	130,52 $\pm 4,08^a$	61,44 $\pm 7,08^b$

Valores expressos em média \pm erro padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância – ANOVA, com pós-teste de Tukey. Na mesma linha, valores seguidos de letras diferentes^{a,b,c,d} indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($P<0,05$).

5.5. Contagem de células ósseas

Os animais do grupo CTL-SL-F1-SL, apresentaram aumento significativo no número de osteócitos quando comparados com os animais dos grupos CTL-CL-F1-CL e CTL-CL-F1-SL. Na quantificação de osteoblasto o grupo CTL-CL-F1-CL apresentou aumento significativo quando comparado com os demais grupos CTLs ($P<0,05$). Nos grupos MSGs, os filhotes com doença periodontal (MSG-CL-F1-CL e MSG-SL-F1-CL) apresentavam maiores quantidades de osteócitos e osteoblastos quando comparados com os grupos MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-SL ($P<0,05$). Na comparação intergrupos, verificamos que os grupos obesos MSG-CL-F1-CL, MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-CL apresentaram aumento significativo de osteócitos e osteoblastos quando comparados com grupos CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL e CTL-SL-F1-CL ($P<0,05$) (tabela 4), evidenciando a interferência da obesidade materna.

Na análise de osteoclastos, os filhotes com doença periodontal, independente dos grupos (CTLs ou MSGs) apresentaram maior quantidade de células clásticas quando comparados com os filhotes sem doença periodontal ($P<0,05$) (tabela 4).

Tabela 4. Quantificação de células ósseas da crista óssea alveolar nos diferentes grupos experimentais da prole feminina.

PARÂMETROS	G1 CTL-CL- F1-CL	G2 CTL-CL- F1-SL	G3 CTL-SL- F1-CL	G4 CTL-SL- F1-SL	G5 MSG-CL- F1-CL	G6 MSG-CL- F1-SL	G7 MSG-SL- F1-CL	G8 MSG-SL- F1-SL
Nº de Osteócitos	377,50 ±7,77 ^a	371,50 ±9,76 ^a	387,20 ±5,61 ^{ab}	406,16 ±5,75 ^{bc}	407,20 ±6,09 ^{bc}	384,25 ±6,57 ^{ab}	425,50 ±7,69 ^{cd}	404,20 ±5,63 ^{bc}
Nº Osteoblastos	108,00 ±3,41 ^a	80,40 ±3,03 ^b	82,00 ±2,27 ^b	76,16 ±2,53 ^b	113,60 ±2,04 ^{ac}	103,50 ±1,95 ^{ac}	115,25 ±5,79 ^{ac}	97,60 ±4,86 ^{acd}
Nº Osteoclastos	2,00 ±0,24 ^a	0,60 ±0,13 ^b	1,20 ±0,10 ^c	0,33 ±0,14 ^b	2,00 ±0,16 ^a	0,25 ±0,13 ^b	2,25 ±0,32 ^a	0,60 ±0,13 ^b

Valores expressos em média ± erro padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância – ANOVA, com pós-teste de Tukey. Na mesma linha, valores seguidos de letras diferentes^{a,b,c,d} indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($P<0,05$).

5.6. Análise histomorfométrica da reabsorção radicular

Entre os animais dos grupos CTLs que tiveram a indução da doença periodontal experimental (CTL-CL-F1-CL e CTL-SL-F1-CL) foi observado uma maior quantidade de reabsorção radicular quando comparados aos demais grupos CTLs sem ligadura ($P<0,05$). Nos filhotes descendentes de mães obesas também foi observado maiores áreas de reabsorção radicular nos animais com doença periodontal, porém, quando comparamos os filhotes de mães MSGs com os de mães CTLs, verificamos que independente da ligadura na prole, os filhotes de mães obesas apresentaram menores áreas de reabsorção radicular ($P<0,05$) (tabela 5).

Tabela 5. Quantificação da área de reabsorção radicular nos diferentes grupos experimentais da prole feminina.

PARÂMETRO	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
	CTL-CL- F1-CL	CTL-CL- F1-SL	CTL-SL- F1-CL	CTL-SL- F1-SL	MSG-CL- F1-CL	MSG-CL- F1-SL	MSG-SL- F1-CL	MSG-SL- F1-SL
Reabsorção radicular (μm^2)	18736,69 $\pm 6582,48^a$	1777,61 $\pm 107,93^b$	15924,27 $\pm 1997,34^a$	2064,18 $\pm 166,52^b$	15169,66 $\pm 2124,58^a$	789,56 $\pm 125,20^c$	4681,58 $\pm 213,20^d$	392,87 $\pm 35,22^c$

Valores expressos em média \pm erro padrão. N= 6 animais/grupo. Análise de variância – ANOVA, com pós-teste de Tukey. Na mesma linha, valores seguidos de letras diferentes^{a,b,c,d} indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($P<0,05$).

6. Discussão

A obesidade materna se tornou uma epidemia mundial (NERI e EDLOW, 2015) despertando o interesse em compreender a relação entre os efeitos da obesidade materna na programação fetal e obesidade futura. Ao analisarmos os parâmetros corporais maternos, verificamos que peso corporal e o comprimento naso-anal foram reduzidos nas mães dos grupos MSG-SL e MSG-CL quando comparados as mães dos grupos controles. Sabe-se que o tratamento neonatal com glutamato monossódico causa lesões no hipotálamo, comprometendo a produção do hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH) e reduzindo os níveis de hormônio do crescimento (GH), resultando em retardo de crescimento e inibição de ganho de massa muscular. Além disso, alterações geradas pela obesidade MSG na região central das vias colinérgicas, localizadas principalmente no hipotálamo, demonstram o papel da acetilcolina (ACh) na regulação da ingestão alimentar e gasto energético, causando diminuição da ingestão de alimentos, redução da massa corporal e depósitos de gordura periférica, assim como em nossos animais (VON DIEMEN *et al.*, 2006; BALBO *et al.*, 2007; SAGAE *et al.*, 2011).

Apesar dos ratos submetidos ao modelo de obesidade MSG geralmente apresentarem ingestão alimentar normal ou diminuída, é possível observar excesso de tecido adiposo, confirmado em nosso estudo através da análise das mães MSGs que tiveram aumento do índice de Lee e aumento dos depósitos de gorduras retroperitoneal e perigonadal. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e o sistema nervoso autônomo (SNA) tem papel importante na obesidade e na função metabólica. Ratos obesos tratados com glutamato monossódico exibem um eixo HPA e SNA alterado, possuindo atividade parassimpática elevada, hiperinsulinemia e hiperatividade vagal, que resulta em acúmulo de gordura visceral (BALBO *et al.*, 2007; SAGAE *et al.*, 2011; GUIMARÃES *et al.*, 2016; TORREZAN *et al.*, 2019).

Ao analisarmos os parâmetros corporais da prole, verificamos que os filhotes de mães controles com periodontite apresentaram aumento significativo do peso corporal e do índice Lee quando comparados aos filhotes de mães controle sem a doença periodontal, mesmo que não tenha sido induzida a obesidade na prole. A periodontite é caracterizada por um estado inflamatório de baixo grau e essa inflamação sistêmica associada a ela pode promover resistência à insulina, através da inibição do receptor de insulina e da sua sinalização. Conseqüentemente, o corpo tenta compensar essa resistência, aumentando a secreção de insulina, causando hiperinsulinemia, resultando em armazenamento de gordura e obesidade (WATANABE *et al.*, 2008; JEPSEN *et al.*, 2020). Além disso, a grelina que é um hormônio

encontrado em taxas elevadas em indivíduos com periodontite está relacionada ao aumento do apetite (YILMAZ *et al.*, 2014; JEPSEN *et al.*, 2020).

É possível notar a interferência da obesidade materna sobre o peso corporal da prole em nosso estudo, quando observamos que a prole de mães obesas sem doença periodontal apresentou maior peso corporal e índice de Lee quando comparados com os filhotes de mães controle sem doença periodontal. Sabe-se que o sistema nervoso central e o sistema cardiometabólico são os sistemas fetais que mais parecem estar vulneráveis na programação fetal durante os períodos críticos do desenvolvimento, podendo ocorrer mudanças permanentes resultantes de um ambiente nutricional e / ou hormonal desfavorável. Os mecanismos moleculares destacaram a sensibilidade do epigenoma da prole à obesidade materna. A grande plasticidade e capacidade de responder a fatores ambientais (nutrientes, oxigênio, hormônios) é uma característica da vida fetal que pode alterar os níveis de expressão gênica por meio de modificações epigenéticas (HEERWAGEN, 2010; NERI e EDLOW, 2015; ŞANLI e KABARAN, 2019). O estudo de WENTZEL *et al.* (2019), mostrou que os distúrbios metabólicos em ratas grávidas e obesas pode trazer profundos efeitos adversos para a prole, assim como em nosso estudo.

Foi possível ver a interferência da doença periodontal materna na prole quando comparamos o grupo CTL-CL-F1-CL com CTL-SL-F1-CL, e os grupos MSG-CL-F1-CL e MSG-CL-F1-SL com MSG-SL-F1-CL e MSG-SL-F1-SL, onde observamos que os filhotes de mães com doença periodontal apresentaram maiores áreas de epitélio gengival e conjuntivo. Isso pode ser atribuído ao fato de que as variações de expressão clínica da doença periodontal se associam a fatores de suscetibilidade genética (KINANE *et al.*, 2017; YU *et al.*, 2018; LOOS e VAN DYKE, 2020). A expressão clínica da inflamação gengival em resposta ao biofilme bacteriano pode ser substancialmente modificada por fatores sistêmicos, sejam inerentes ao hospedeiro ou relacionados a influências ambientais. As mudanças epigenéticas na gengiva oriundas da interação da bactéria *Porphyromonas gingivalis* com células epiteliais, alteram os receptores Toll-like (TLRs), resultando em deficiências na expressão e sinalização desses receptores e reduzindo o estado inato do hospedeiro contra patógenos, levando à persistência bacteriana e inflamação (TROMBELLI e FARINA, 2013; BENAKANAKERE *et al.*, 2015).

Além disso, quando comparamos o grupo MSG-CL-F1-CL com o grupo CTL-CL-F1-CL verificamos que a obesidade materna potencializou o processo inflamatório no periodonto de proteção da prole feminina, resultando em maiores áreas de epitélio gengival e tecido conjuntivo. Esses resultados nos mostram mais uma vez a programação fetal, justificando o fato de a inflamação sistêmica associada com a obesidade aumentar a inflamação periodontal

e os processos destrutivos causados por microrganismos orais. O fato de o tecido adiposo liberar citocinas pró-inflamatórias e hormônios conhecidos como adipocitocinas, induzem processos inflamatórios e distúrbios do estresse oxidativo, gerando fisiopatologia semelhante entre as duas doenças. A obesidade pode paralisar a resposta imune inata do periodonto via infiltração atenuante e ativação de macrófagos e, assim, agravar a periodontite (MARTINEZ-HERRERA *et al.*, 2017; JEPSEN *et al.*, 2020).

Quando analisamos a perda óssea verificamos menor perda óssea alveolar nos filhotes do grupo MSG-CL-F1-CL comparados com os grupos MSG-SL-F1-CL e CTL-CL-F1-CL, evidenciando um fator protetor da obesidade e/ou da periodontite materna sobre o osso alveolar da prole. Em pacientes obesos há maior carga mecânica no osso, que pode promover alguns estímulos no sistema esquelético, como redução de apoptose, aumento da diferenciação de osteoblastos e estimulação da matriz óssea. Ainda, a maior densidade mineral óssea (DMO) em obesos está diretamente relacionada com concentrações circulantes de insulina aumentadas, uma vez que os osteoblastos possuem um receptor de insulina que estimula a diferenciação osteogênica e inibe a osteoclastogênese, resultando em menor perda óssea alveolar. Sabe-se que a leptina, um hormônio secretado principalmente pelo tecido adiposo, também desempenha função protetora sobre o tecido ósseo através de aumento da atividade osteogênica e fator fisiológico anti-reabsortivo (BRANDELERO *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2017; MATTIA *et al.*, 2017).

Verificamos que a prole feminina dos grupos MSG-CL-F1-CL, MSG-CL-F1-SL e MSG-SL-F1-CL apresentaram aumento significativo de osteócitos e osteoblastos quando comparados com grupos CTL-CL-F1-CL, CTL-CL-F1-SL e CTL-SL-F1-CL, evidenciando a interferência da obesidade materna. Dentre as moléculas biologicamente ativas secretadas pelo tecido adiposo, a leptina e a adiponectina são as mais abundantes, havendo relatos que a leptina é capaz de estimular a diferenciação de células da medula óssea em osteoblastos (MATTIA *et al.*, 2017).

Quando comparamos os filhotes de mães MSGs com os de mães CTLs, verificamos que independente da ligadura na prole, os filhotes de mães obesas apresentaram menores áreas de reabsorção radicular. Os odontoclastos são as células responsáveis pela reabsorção de tecidos duros dentais, e são morfológica e funcionalmente semelhantes aos osteoclastos. Sabe-se que o ligante do receptor do ativador do fator nuclear Kappa β (RANKL) é um membro da família do fator de necrose tumoral que estimula a ativação dos osteoclastos, sendo que a expressão de RANKL também foi detectada em odontoclastos localizadas na dentina radicular em reabsorção, sugerindo um mecanismo regulatório comum de reabsorção celular de tecidos

mineralizados, como ossos e dentes. Diante disso, é possível atribuir o mesmo fator protetor da obesidade MSG sobre a massa óssea para a reabsorção radicular, uma vez que em indivíduos obesos as altas taxas de insulina plasmática se associam a inibição da osteoclastogênese, bem como a leptina secretada pelo tecido adiposo é um fator anti-reabsortivo fisiológico (SASAKI, 2003; BRANDELERO *et al.*, 2012; MATSUDA *et al.*, 2017).

7. Conclusão

Concluimos que a obesidade e a periodontite materna aumentam a adiposidade e alteram as espessuras do epitélio gengival e do tecido conjuntivo da prole feminina. Além disso, a obesidade hipotalâmica materna, desempenha função protetora, diminuindo a perda óssea alveolar, reduzindo a reabsorção radicular externa e aumentando a quantidade de células ósseas alveolares na prole.

8. Referências bibliográficas

AGARWAL, P.; MORRISSEAU, T.S.; KERELIUK, S.M.; DOUCETTE, C.A.; WICKLOW, B.A.; DOLINSKY, V.W. Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. **Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences**, v. 55, n. 2, p. 71-101, 8 jan. 2018.

ALVES, C. ANDION, J.; BRANDÃO, M.; MENEZES, R. Mecanismos Patogênicos da Doença Periodontal Associada ao Diabetes Melito. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 7, p. 1050-1057, out. 2007.

ANDRADE, K.Q.; ALMEIDA-DA-SILVA, C.L.C.; COUTINHO-SILVA, R. Immunological Pathways Triggered by *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*: Therapeutic Possibilities? **Mediators of Inflammation**, v. 2019, p.1-20, 24 jun. 2019.

ANDREASEN, K.R.; ANDERSEN, M.L.; SCHANTZ, A.L. Obesity and pregnancy. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 83, p. 1022-1029, nov. 2004.

ARAÚJO, M.G.; SUKEKAVA F. Epidemiologia da doença periodontal na América Latina. **Revista Periodontia**, v. 17, n. 2, p. 7-13, jun. 2007.

BAINBRIDGE, B.W.; DARVEAU, R.P. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide: an unusual pattern recognition receptor ligand for the innate host defense system. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 59, p. 131–138, 2001.

BALBO, S.L.; GRASSIOLLI, S.; RIBEIRO, R.A.; BONFLEUR, M.L.; GRAVENA, C.; BRITO, M.N.; ANDREAZZI, A.E.; MATHIAS, P.C.F.; TORREZAN, R. Fat storage is partially dependent on vagal activity and insulin secretion of hypothalamic obese rat. **Endocrine**. v. 31, p. 142-148, July 2007.

BAUTISTA, R.J.H.; MAHMOUD, A.M.; KÖNIGSBERG, M.; GUERRERO, N.E.L.D. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and antiobesity medicinal plants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 503–516, mar. 2019.

BENAKANAKERE, M.; ABDOLHOSSEINI, M.; HOSUR, K.; FINOTI, L.S.; KINANE, D.F. TLR2 Promoter Hypermethylation Creates Innate Immune Dysbiosis. **Journal Of Dental Research**, v. 94, n. 1, p. 183-191, 11 nov. 2014.

BEZERRA, B.B.; SALLUM, E.A.; SALLUM, A.W. Obesity and periodontal disease: why suggest such relationship? An overview. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 6, n. 23, p. 1420-1422, oct/dec. 2007.

BIANCO-MIOTTO, T.; CRAIG, J.M.; GASSER, Y. P.; VAN DIJK, S.J.; OZANNE, S.E. Epigenetics and DOHaD: from basics to birth and beyond. **Journal Of Developmental Origins Of Health And Disease**, v. 8, n. 5, p. 513-519, 11 set. 2017.

BRANDELERO, S.; BONFLEUR, M.L.; RIBEIRO, R.A.; VANZELA, E.C.; NASSAR, C.A.; NASSAR, P.O.; BALBO, S.L. Decreased TNF- α gene expression in periodontal ligature in MSG-obese rats: a possible protective effect of hypothalamic obesity against periodontal disease?. *Archives Of Oral Biology*, v. 57, n. 3, p. 300-306, mar. 2012.

CAMPOS, C.B.S.; PALANCH A.C. Nutrição materna e programação fetal: o papel dos hábitos alimentares no desenvolvimento embrionário e pós-natal. **Saúde em Revista**, Piracicaba, v. 17, n. 45, p. 49-59, jan/abr. 2017.

CHAFFEE, B.W.; WESTON, S.J. Association Between Chronic Periodontal Disease and Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Periodontology**, v. 81, n. 12, p. 1708-1724, dec. 2010.

COLTRI, B.M.; COSTA, K.F.; PONTILLO, V.; BONFLEUR, M.L.; BRANCALHÃO, R.M.C.; BEU, C.C.L.; PEDROTTI, S.; NASSAR, P.O.; NASSAR, C.A. Avaliação Morfométrica da Influência da Obesidade Sobre o Tecido Gengival de Ratos com Periodontite Experimental. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 21, n. 2, p. 127-132, 2017.

CORRÊA, J.D.; FERNANDES, G.R.; CALDERARO, D.C.; MENDONÇA, S.M.S.; SILVA, J.M.; ALBIERO, M.L.; CUNHA, F.Q.; XIAO, E.; FERREIRA, G.A.; TEIXEIRA, A.L.; MUKHERJEE, C.; LEYS, E.J.; SILVA, T.A.; GRAVES, D.T. Oral microbial dysbiosis linked

to worsened periodontal condition in rheumatoid arthritis patients. **Scientific Reports**, v. 9, n. 8379, p. 1-10, 2019.

COSTA, K.; BONFLEUR, M.; PONTILLO, V.; PEDROTTI, S.; BERNARDON, P.; BRANCALÃO, R.; BEU, C.; NASSAR, P.; NASSAR, C. Evaluation of Periodontal Tissues and Abdominal Aorta of Rats with Induced Obesity by Monosodium Glutamate and Experimental Periodontitis. **British Journal Of Medicine And Medical Research**, v. 19, n. 2, p. 1-14, 10 jan. 2017.

CULLINAN, M.P.; FORD, P.J.; SEYMOUR, G.J. Periodontal disease and systemic health: current status. **Australian Dental Journal**, v. 54, n. 1, p. 62–69, 2009.

FAUL, F.; ERDFELDER, E.; BUCHNER, A.; LANG, A.G. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. **Behavior Research Methods**, v.41, n.4, p.1149-1160, 2009.

FAUL, F.; ERDFELDER, E.; LANG, A.G.; BUCHNER, A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. **Behavior Research Methods**, v.39, n.2, p.175-191, 2007.

GENCO, R.; GROSSI, S.G.; HO, A.; NISHIMURA, F.; MURAYAMA, Y. A Proposed Model Linking Inflammation to Obesity, Diabetes, and Periodontal Infections. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 11, p.2075-2084, nov. 2005.

GIRELLI, C. J.; AMORIM, J.; WELTER, R.; MACHADO, M.; CHUFFA, L.; AMORIM, E. Testosterone Deficiency Associated with Periodontal Disease Increases Alveolar Bone Resorption and Changes the Thickness of the Gingival Epithelium. **Journal of Advances in Medicine and Medical Research**, v. 22, n. 10, p. 1-9, 2017.

GODFREY, K.M.; REYNOLDS, R.M.; PRESCOTT, S.L.; NYIRENDA, M.; JADDOE, V.W.; ERIKSSON, J.G.; BROEKMAN, B.F. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. **Lancet Diabetes Endocrinology**, v.5, n.1, p.53-64, jan. 2016.

GOMES, R.M.; MARQUES, A.S.; TORREZAN, R.; SCOMPARIN, D.X.; MATHIAS, P.C.F.; RINALDI, W. Efeito de um programa de exercício físico moderado em ratos de diferentes modelos de obesidade. **Revista da Educação Física / UEM**, v. 23, n. 2, p. 285-294, 2012.

GOODSON J.M.; GROPPPO, D.; HALEM, S.; CARPINO, E. Is obesity an Oral Bacterial Disease? **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 6, p. 519-523, 2009.

GUIMARÃES, E.S.G.; CAIRES JÚNIOR, L.C.; MUSSO, C.M.; ALMEIDA, M.M.; GONÇALVES, C.F.; PETTERSEN, K.G.; PAES, S.T.; GARCIA, R.M.G.; MATHIAS, P.C.F.; TORREZAN, R. Altered behavior of adult obese rats by monosodium l-glutamate neonatal treatment is related to hypercorticosteronemia and activation of hypothalamic ERK1 and ERK2. **Nutritional Neuroscience**, v. 20, n. 3, p. 153-160, 2 mar. 2016.

HAJISHENGALLIS G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, p. 30-44, 2015.

HAJJ, N.E.; SCHNEIDER, E.; LEHNEN, H.; HAAF, T. Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment. **Reproduction**, v. 148, n. 6, p. 111-120, dez. 2014.

HASAN, A.; PALMER, R.M. A clinical guide to periodontology: Pathology of periodontal disease. **British Dental Journal**. v. 216, n. 8, p. 457-461, apr. 2014.

HASTURK, H.; KANTARCI, A.; VAN DYKE, T.E. Oral inflammatory diseases and systemic inflammation: role of the macrophage. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 3, n. 118, p. 1-18, may. 2012.

HEERWAGEN, M.J.R.; MILLER, M.R.; BARBOUR, L.A.; FRIEDMAN, J.E. Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. **American Journal Of Physiology-Regulatory, Integrative And Comparative Physiology**, v. 299, n. 3, p. 711-722, set. 2010.

HUANG, H.; YAN, Z.; CHEN, Y.; LIU, F. A social contagious model of the obesity epidemic. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 28 nov. 2016.

JAGANNATHACHARY, S.; KAMARAJ, D. Obesity and periodontal disease. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 14, n. 2, p. 96-100, apr/jun. 2010.

JEPSEN, S.; SUVAN, J.; DESCHNER, J. The association of periodontal diseases with metabolic syndrome and obesity. **Periodontology 2000**, v. 83, n. 1, p. 125-153, 8 maio 2020.

KINANE, D.F.; STATHOPOULOU, P.G.; PAPAPANOU, P.N. Periodontal diseases. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-14, 22 jun. 2017.

KOLETZKO, B.; SYMONDS, M.E.; OLSEN, S.F.; EARLY NUTRITION PROGRAMMING PROJECT; EARLY NUTRITION ACADEMY. Programming research: where are we and where do we go from here? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 6, p. 2036-2043, dez. 2011.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N.P. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1013p.

LIRA-JUNIOR, R.; FIGUEREDO, C.M. Periodontal and inflammatory bowel diseases: Is there evidence of complex pathogenic interactions? **World Journal Gastroenterology**, v. 22, n. 35, p. 7963-7972, sept. 2016.

LOBATO, J.C.P.; COSTA, A.J.L.; KALE, P.L.; CAVALCANTI, M.L.T.; KUSCHNIR, M.C.C.; VELARDE, L.G.C.; NÓBREGA, A.C.L.; OLEJ, B.; DUARTE, L.B.; SZKLO, M. Fetal programming and metabolic abnormalities: design of a case-control study. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 1, p. 52-62, jan/mar. 2016.

LOOS, B.G.; VAN DYKE, T.E. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 83, n. 1, p. 26-39, 8 maio 2020.

MACHADO, E.; ZANATTA, G.B.; ASSIS, C.A.; ZANATTA, F.B. Obesidade como fator de risco à periodontite: é possível? **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 59, p. 45-50, jan./jun. 2011.

MALHOTRA, N.; MALHOTRA, J.; BORA, N.M.; BORA, R.; MALHOTRA, K. Fetal Origin of Adult Disease. **Donald School Journal of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, v. 8, n. 2, p. 164-177, apr/june. 2014.

MARCINIAK, A. PATRO-MALYSZA, J.; KIMBER-TROJNAR, Z.; MARCINIAK, B.; OLESZCZUK, J.; LESZCZYNSKA-GORZELAK, B. Fetal programming of the metabolic syndrome. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 56, p. 133-138, 2017.

MARTINEZ-HERRERA, M.; SILVESTRE-RANGIL, J.; SILVESTRE F.J. Association between obesity and periodontal disease. A systematic review of epidemiological studies and controlled clinical trials. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 22, n. 6, p. 708-715, nov. 2017.

MATSUDA, Y.; MOTOKAWA, M.; KAKU, M.; SUMI, H.; TANNE, K.; TANIMOTO, K. RANKL and OPG expression: jiggling force affects root resorption in rats. **The Angle Orthodontist**, v. 87, n. 1, p. 41-48, 24 jun. 2017.

MATTIA, T.M.; LEITE, M.A.; NASSAR, P.O.; SAGAE, S.C.; ALEGRE-MALLER, A.C.P.; PANDINI, J.H.; CARDOSO, N.; MARCHIORI, V.; BRANCALHÃO, R.M.C.; NASSAR, C.A. The influence of obesity induced by monosodium glutamate in periodontal tissues of female Wistar rats with experimental periodontitis. **American International Journal Of Contemporary Research**, v. 7, p. 28-40, sept. 2017.

MOURA-GREC, P.G.; MARSICANO, J.A.; CARVALHO, C.A.P.; SALES-PERES, S.H.C. Obesity, and periodontitis: systematic review and meta-analysis. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 6, p.1763-1772, 2014.

NASCIMENTO, G.G. LEITE, F.R.; CORREA, M.B.; HORTA, B.L.; PERES, M.A.; DEMARCO, F.F. Relationship Between Periodontal Disease and Obesity: The Role of Life - Course Events. **Brazilian Dental Journal**, v. 25, n. 2, p. 87-89, 2014.

NASSAR, P.O.; NASSAR, C.A.; GUIMARÃES, M.R.; AQUINO, S.G.; ANDIA, D.C.; MUSCARA, M.N.; SPOLIDORIO, D.M.P.; ROSSA JR, C.; SPOLIDORIO, L.C. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats, **Journal of Periodontology Research**, v. 44, n. 4, p. 479-488, 2009.

NERI, C.; EDLOW, A.G. Effects of Maternal Obesity on Fetal Programming: Molecular Approaches. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n. 2, p. 1-21, 2015.

NISHIMURA, F.; IWAMOTO, Y.; MINESHIBA, J.; SHIMIZU, A.; SOGA, Y.; MURAYAMA, Y. Periodontal Disease and Diabetes Mellitus: The Role of Tumor Necrosis Factor- α in a 2-Way Relationship. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 1, p. 97-102, jan. 2003.

NOGUEIRA, A.I.; CARREIRO, M.P. Obesity and pregnancy. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 23, n. 1, p. 88-98, 2013.

OESTREICH, A.K.; MOLEY, K.H. Developmental and Transmittable Origins of Obesity-Associated Health Disorders. **Trends In Genetics**, v. 33, n. 6, p. 399-407, jun. 2017.

PERLSTEIN, M.I.; BISSADA, N.P. Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. **Oral Surgery**, v. 43, n. 5, may. 1977.

SAGAE, S.C.; GRASSIOLLI, S.; RAINEKI, C.; BALBO, S.L.; SILVA, A.C.M. Sex differences in brain cholinergic activity in MSG-obese rats submitted to exercise. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 89, p. 845-853, 2011.

SAITO, T.; SHIMAZAKI, Y.; SAKAMOTO, M. Obesity and Periodontitis. **The New England Journal of Medicine**, v.339, n. 5, 1998.

ŞANLI, E.; KABARAN, S. Maternal Obesity, Maternal Overnutrition and Fetal Programming: effects of epigenetic mechanisms on the development of metabolic disorders. **Current Genomics**, v. 20, n. 6, p. 419-427, 2 jan. 2019.

SANTOS, T.; VASCONCELOS, R.M.; CARDOSO, L.; FAGUNDES, J.; ALVES, E.S.; RAMALHO, L.M.P. Evidências da interação entre obesidade e doença periodontal: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Periodontology**, v. 24, n. 1, p. 35-40, mar. 2014.

SASAKI, T. Differentiation and functions of osteoclasts and odontoclasts in mineralized tissue resorption. **Microscopy Research And Technique**, v. 61, n. 6, p. 483-495, 18 jul. 2003.

SECO, S.; MATIAS, A. Origem fetal das doenças do adulto: revisitando a teoria de Barker. **Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa**, v. 3, n. 3, p. 158-168, 2009.

STEFFENS, J.P.; COIMBRA, L.S., RAMALHO-LUCAS, P.D., ROSSA JR, C.; SPOLIDORIO, L. C. The effect of supra- and subphysiologic testosterone levels on ligature-induced bone loss in rats – a radiographic and histologic pilot study. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 11, p. 1432-1439, 2012.

STOLARCZYK E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 35–40, 2017.

SUVAN. J.; D’AIUTO, F.; MOLES, D.R.; PETRIE, A.; DONOS, N. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. **Obesity Reviews**, v.12, p. 381-404, 2011.

SUVAN, J.E.; FINER, N.; D’AIUTO, F. Periodontal complications with obesity. **Periodontology 2000**, v. 78, p. 98–128, 2018.

SUZUKI, K. The developing world of DOHaD. **Journal Of Developmental Origins Of Health And Disease**, v. 9, n. 3, p. 266-269, 5 set. 2017.

TORREZAN, R.; MALTA, A.; RODRIGUES, W.N.; SANTOS, A.A.A.; MIRANDA, R.A.; MOURA, E.G.; LISBOA, P.C.; MATHIAS, P.C. Monosodium I -glutamate-obesity onset is associated with disruption of central control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and autonomic nervous system. **Journal Of Neuroendocrinology**, v. 31, n. 6, p. 1-10, abr.2019.

TROMBELLI, L.; FARINA, R. A review of factors influencing the incidence and severity of plaque-induced gingivitis. **Minerva Stomatologica**, v. 62, n. 6, p. 207-234, jun.2013.

VALLE, C.P.; DURCE K.; FERREIRA, C.A.S. Consequências fetais da obesidade gestacional. **O Mundo da Saúde São Paulo**, v. 32, n. 4, p. 537-541, 2008.

VON DIEMEN, V.; TRINDADE, E.N.; TRINDADE, M.R.M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21, n. 6, p.425-429, 2006.

WATANABE, K.; PETRO, B. J.; SHLIMON, A. E.; UNTERMAN, T.G. Effect of Periodontitis on Insulin Resistance and the Onset of Type 2 Diabetes Mellitus in Zucker Diabetic Fatty Rats. **Journal Of Periodontology**, v. 79, n. 7, p. 1208-1216, jul. 2008.

WENTZEL, P.; ERIKSSON, U.J.; HERRERA, E. High-fat diet in pregnant rats and adverse fetal outcome. **Upsala Journal Of Medical Sciences**, v. 124, n. 2, p. 125-134, 3 abr. 2019.

WHITEMAN, V.E.; GOSWAMI, A.; SALIHU, H.M. Telomere length and fetal programming: A review of recent scientific advances. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 77, p. 1-9, 2017.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION (2016). **Obesity and overweight**. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 12 jan 2021.

WHO. WORD HEALTH ORGANIZATION (2018). **Obesity and overweight**. <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

YILMAZ, G.; KIRZIOĞLU, F.Y.; DOĞUÇ, D.K.; KOÇAK, H.; ORHAN H. Ghrelin levels in chronic periodontitis patients. **Odontology**, v. 102, n. 1, p. 59-67, 5 jan. 2013.

YU, Y.H.; DOUCETTE-STAMM, L.; ROGUS, J.; MOSS, K.; ZEE, R.Y.L.; STEFFENSEN, B.; RIDKER, P.M.; BURING, J.E.; OFFENBACHER, S.; KORNMAN, K. Family History of MI, Smoking, and Risk of Periodontal Disease. **Journal Of Dental Research**, v. 97, n. 10, p. 1106-1113, 21 jun. 2018.

9. ANEXOS

Parecer de protocolo do Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIOESTE.



Autorização

O protocolo intitulado “Influência da obesidade-MSG e doença periodontal materna sobre a massa óssea mandibular da prole na vida adulta”, sob a responsabilidade de **Sandra Lucinei Balbo** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 08/12/2017.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/02/2017 - 02/02/2020
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico: <i>Rattus norvegicus</i> Wistar
N. de animais	20
Peso/Idade	100-200g/70 dias
Sexo	Feminino
Origem	Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE - campus Cascavel - PR.

Cascavel, 11/12/2017

Prof. Dra. Leticiana Oliveira de Fariña
Coordenadora do CEUA
Portaria nº 3730/2016 - GRE