



**ERIC FRANCELINO ANDRADE**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE  
O METABOLISMO E EXPRESSÃO DE  
PROTEÍNAS INFLAMATÓRIAS EM RATOS  
COM DOENÇA PERIODONTAL, DIABÉTICOS  
OU NÃO**

**LAVRAS- MG**

**2016**

**ERIC FRANCELINO ANDRADE**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE O METABOLISMO E  
EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS INFLAMATÓRIAS EM RATOS COM  
DOENÇA PERIODONTAL, DIABÉTICOS OU NÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Lavras, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias, área de concentração em  
Ciências Veterinárias, para a obtenção do  
título de Doutor.

Prof. Dr. Luciano José Pereira  
Orientador

Prof. Dr. Gustavo Puggina Rogatto  
Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo  
Coorientadores

**LAVRAS- MG**  
**2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Andrade, Eric Francelino.

Efeitos do treinamento físico sobre o metabolismo e expressão de proteínas inflamatórias em ratos com doença periodontal, diabéticos ou não / Eric Francelino Andrade. – Lavras : UFLA, 2016.

135 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador: Luciano José Pereira.

Bibliografia.

1.Inflamação. 2. Comportamento. 3. Disfunção metabólica. 4.  
Atividade física. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**ERIC FRANCELINO ANDRADE**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE O METABOLISMO E  
EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS INFLAMATÓRIAS EM RATOS COM  
DOENÇA PERIODONTAL, DIABÉTICOS OU NÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 24 de Maio de 2016.

Prof. Dr. Leandro Silva Marques	UFVJM
Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo	UFLA
Prof. Dr. Rodrigo Ferreira de Moura	UFLA
Prof. Dr. Gustavo Puggina Rogatto	UFLA

Prof. Dr. Luciano José Pereira  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2016**

*À minha mãe, Ione Francelino Andrade (in memoriam) que, com sua imensa paciência e sabedoria, mostrou-me o valor da educação e sempre me incentivou a buscar meus sonhos com honestidade...*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, principalmente, a Deus por me amparar em todos os momentos e por ter concedido ânimo e paciência para percorrer esta jornada. Agradeço a Ele por todas as ferramentas fornecidas nos momentos em que mais precisei.

Aos meus pais (Ione Francelino Andrade e Wellington Resende Andrade) e avós (Antônio Wander de Andrade e Hilda Resende Andrade) agradeço pelos valores ensinados e por toda paciência que tiveram durante minha criação e educação. Além disso, agradeço aos meus tios Wanderley Resende de Andrade, Marina Resende Andrade e Maria Aparecida Francelino (tia Ninica), por sempre estarem presentes nos momentos em que precisei de auxílio e conselhos. Agradeço ao meu irmão (Alex Resende Andrade) por compartilhar comigo os momentos tristes e felizes, e a meus primos por fortalecerem sempre os laços familiares.

Agradeço à minha esposa Débora Ribeiro Orlando pelo amor, companheirismo, cumplicidade e por ter mudado minha vida fazendo com que minha visão sobre diversos aspectos da vida fosse melhorada. Não poderia deixar de lembrar-me dos meus queridos amigos Dênnis Bernardino e Luiza Antunes, por todos os anos de momentos divertidos e por manterem contato mesmo com toda a distância e compromissos. Agradeço à Pipi, Chiquita e Chico por trazerem alegria ao meu lar e por serem muito mais que animais de estimação.

Obrigado Víviam de Oliveira Silva, Renata de Carvalho Foureaux, Núbia Ferreira Gomes, Ingrid Edwiges Nunes, Andressa Ribeiro Veiga Lima e Natália Oliveira de Moura pela valiosíssima ajuda sem a qual não teria sido possível desenvolver o projeto que deu origem a esta tese.

Agradeço ao meu querido orientador, Prof. Dr. Luciano José Pereira, por ter feito muito mais que orientar. Seu comprometimento com a carreira é um exemplo que pretendo seguir durante toda a vida. Obrigado pela compreensão, confiança, estímulo e por sempre ter exigido meu melhor. Da mesma forma agradeço a meus coorientadores, Prof. Dr. Gustavo Puggina Rogatto e Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo pela paciência, prontidão em ajudar e por toda contribuição profissional e pessoal. Também agradeço ao Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa e à sua equipe pela ajuda ao longo do meu curso. Agradeço à professora Mary Suzan Varaschin e sua equipe (especialmente Débora e Rafael), pelo acesso aos materiais e equipamentos para realização dos procedimentos de histologia. Adicionalmente, agradeço ao Prof. Dr. Rodrigo Ferreira de Moura pela imensa ajuda e paciência durante as análises moleculares.

Agradeço ao excelentíssimo Reitor da Universidade Federal de Lavras, José Roberto Soares Scolforo, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação representada pelo Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo.

Também agradeço à equipe de professores e alunos do Departamento de Zootecnia que ajudaram cedendo laboratórios, materiais e equipamentos. Agradeço à equipe técnica (especialmente ao Willian, Marcos e Fidélis) e aos demais docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e do Departamento de Medicina Veterinária por serem sempre prestativos, eficientes e solícitos. Com muito respeito, agradeço aos animais utilizados nos experimentos, que com sua vida permitiram a obtenção destes resultados.

*“Leve na sua memória, para o resto de sua vida, as coisas boas que surgiram no meio das dificuldades. Elas serão uma prova de sua capacidade em vencer as provas e lhe darão confiança na presença divina, que nos auxilia em qualquer situação, em qualquer tempo, diante de qualquer obstáculo.”*

Francisco Cândido Xavier

## RESUMO GERAL

A doença periodontal (DP) é uma complicação prevalente do diabetes *mellitus* (DM), havendo uma relação bidirecional entre estas doenças. A atividade física pode melhorar o perfil metabólico e inflamatório. Assim, objetivou-se com o presente estudo investigar os efeitos do exercício sobre a perda óssea e comportamento ansioso/depressivo em ratos com DP. Avaliou-se também o perfil metabólico de ratos induzidos à DP e ao DM tipo 2. Esta tese foi dividida em três capítulos. No primeiro, realizou-se uma revisão sistemática em que se investigaram os efeitos do exercício sobre a DP. Dos 24 artigos selecionados, 12 observaram que o exercício atenua os parâmetros da DP, enquanto 10 não encontraram diferença e apenas dois relataram piora. No segundo capítulo, 20 ratos *Wistar* machos, foram distribuídos em esquema fatorial 2X2 (com ou sem DP, com ou sem exercício). Os animais realizaram oito semanas de treinamento e a DP foi induzida por ligadura no primeiro molar mandibular. Também foi avaliado o comportamento ansioso/depressivo dos animais. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) ( $p < 0,05$ ). O exercício atenuou a perda óssea, o comportamento ansioso/depressivo, melhorou o perfil inflamatório e aumentou as ramificações dos astrócitos hipocâmpais. No terceiro estudo, 40 animais foram distribuídos, em esquema fatorial 2x2x2 (induzidos à doença periodontal ou não, diabéticos ou não, submetidos a treinamento ou não). O DM foi induzido por meio da administração de dieta hiperlipídica associada a uma dose de estreptozotocina (35 mg/Kg do animal). Durante oito semanas os animais foram treinados e, faltando 14 dias para o final do experimento, a DP foi induzida. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste F ( $p < 0,05$ ). Os animais diabéticos treinados apresentaram menor perda óssea (morfometria), glicemia, hemoglobina glicada e triacilgliceróis. Conclui-se que o treinamento melhorou a ansiedade/depressão, além de atenuar a inflamação e a perda óssea nos ratos com DP, diabéticos ou não.

**Palavras-chave:** Inflamação. Comportamento. Disfunção metabólica. Atividade física.

## GENERAL ABSTRACT

Periodontal disease (PD) is a complication of diabetes *mellitus* (DM). A bidirectional relationship exists between these disorders. Once physical activity can improve metabolic and inflammatory status, the aim of this study was to investigate the effects of exercise on alveolar bone loss and anxious/depressive behavior in rats with PD. We also evaluated the metabolic profile of rats induced to PD and type 2 DM. This thesis was divided into three chapters. At first we performed a systematic review which investigated the effects of exercise on the progression of PD. Of the 24 selected articles, 12 observed that exercise attenuates the PD, while 10 found no difference and two reported worsening. In second study, 24 male Wistar rats were distributed in factorial design 2X2 (with or without DP, with or without exercise). The animals trained for eight weeks and DP was induced by ligature, at the last 14 days of the experiment. On the last week of experiment the anxious/depressive behavior was assessed. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) ( $p < 0,05$ ). Exercise attenuated bone loss and anxious/depressive behavior, enhanced local inflammatory profile and increased branching of hippocampal astrocytes. In the third chapter, 40 rats were distributed in a factorial design 2x2x2 (induced or not to PD, diabetic or not, trained or not). Type 2 diabetes was induced by administration of high fat diet for four weeks associated with a low dose of streptozotocin (35 mg/kg of animal). During eight weeks animals were trained and 14 days before the end of the experiment, PD was induced by ligature. Data were submitted to ANOVA and means were compared by F test ( $p < 0,05$ ). Trained diabetic animals exhibited lower bone loss (evaluated by morphometric analysis), blood glucose, glycated hemoglobin and triacylglycerols. No changes were observed in total cholesterol and fractions. We conclude that the training improves anxiety/depression, besides reducing inflammation and bone loss in rats with PD, diabetic or not.

**Keywords:** Inflammation. Behavior. Metabolic dysfunction. Physical activity.

## LISTA DE FIGURAS

### SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

#### ARTIGO 1

- Figura 1:** Fluxograma do processo de busca de artigos utilizando combinações das palavras-chave “*exercise*”, “*periodontal disease*”, “*physical activity*” e “*periodontitis*”.....53
- Figura 2:** Efeitos da atividade física sobre a progressão da doença periodontal a partir do resultado de 24 estudos.....54

#### ARTIGO 2

- Figura 1:** Fluxograma das etapas realizadas durante o período experimental. A: Aclimação. B: Ambientação ao meio aquático. C: Natação com incremento de tempo. D: Natação com carga relativa a 5% do peso corporal, cinco dias por semana. E: Período de doença periodontal. F: Análise do comportamento ansioso e depressivo através do *Marble Burying Test*. .....81
- Figura 2:** Perda óssea alveolar (ABL) e perda de inserção epitelial (AL) de ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste F,  $p < 0,05$ ). <sup>a-b</sup> Letras minúsculas indicam diferença entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste F,  $p < 0,05$ ). .....86
- Figura 3:** Valores médios da expressão das citocinas IL-10, TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  no tecido gengival de ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas

	indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste F, $p < 0,05$ ).....	88
<b>Figura 4:</b>	Representação das citocinas $\beta$ -actina, IL-10, TNF- $\alpha$ e IL1- $\beta$ expressas no tecido gengival de ratos <i>Wistar</i> com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. C – Grupo não treinado. DP – Grupo não treinado e com doença periodontal. EX – Grupo treinado. EX + DP – Grupo treinado e com doença periodontal.....	89
<b>Figura 5:</b>	Valores médios dos resultados relativos ao comportamento ansioso e depressivo avaliados através do <i>Marble Burying Test</i> em ratos <i>Wistar</i> com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste <i>Student–Newman–Keuls</i> , $p < 0,05$ ). <sup>a-b</sup> Letras minúsculas indicam diferença entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste <i>Student–Newman–Keuls</i> , $p < 0,05$ ). .....	89
<b>Figura 6:</b>	(A)Valores médios das ramificações dos astrócitos hipocampais de ratos <i>Wistar</i> com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste F, $p < 0,05$ ). (B) Representação dos astrócitos na região do hipocampo dos grupos experimentais. C – Grupo não treinado. DP – Grupo não treinado e com doença periodontal. EX – Grupo treinado. EX + DP – Grupo treinado e com doença periodontal.....	90

### ARTIGO 3

**Figura 1:** Fluxograma das etapas realizadas durante o período experimental. A – Período de ambientação. B – Período de consumo de dieta hiperlipídica pelos animais diabéticos e ração comercial pelos ratos não diabéticos. C – Injeção de streptozotocina (35 mg/Kg). D – Confirmação do DM (glicemia superior a 200 mg/dl). E- Ambientação ao meio aquático onde os ratos permaneceram duas horas por dia, por 7 dias, em um tanque com água a cinco centímetros de profundidade. F - Período de ambientação ao exercício. Natação em água a 50 centímetros de profundidade, 10 minutos no primeiro dia, com incremento de 10 minutos diários até que os ratos nadem 60 minutos ininterruptos. G – Período de treinamento. Natação durante 60 minutos por dia, cinco dias por semana com carga relativa a 5% do peso corporal acoplada ao tórax dos animais. H – Indução de doença periodontal. Permanência da ligadura no primeiro molar mandibular. I – Final do experimento. Coleta de sangue, gengivas e mandíbula. Eutanásia de todos os animais. ....109

**Figura 2:** Representação da Perda Óssea Alveolar (POA) em ratos distribuídos nos seguintes grupos: A – animais não treinados. B– animais com doença periodontal. C – animais treinados. D – animais treinados e com doença periodontal. E – animais com diabetes tipo 2. F – animais com diabetes tipo 2 e doença periodontal. G – animais diabéticos tipo 2, treinados. H – animais diabéticos tipo 2 com doença periodontal e treinados. ....115

## LISTA DE TABELAS

### SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

#### ARTIGO 1

**Tabela 1:** Principais características dos estudos selecionados.....55

#### ARTIGO 3

**Tabela 1:** Distribuição dos grupos experimentais.....106

**Tabela 2:** Perfil glicêmico de ratos diabéticos tipo 2 (HFD/STZ) com doença periodontal induzida por ligadura, submetidos a oito semanas de treinamento físico. ....112

**Tabela 3:** Concentrações de triacilgliceróis, colesterol total e frações em ratos diabéticos e com doença periodontal submetidos a treinamento físico.....113

**Tabela 4:** Perda óssea alveolar de ratos diabéticos e com doença periodontal submetidos a treinamento físico.....114

#### ANEXO B

Tabela 1 Análise de variância para perda óssea alveolar, avaliada por histomorfometria, em ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico. ....130

Tabela 2 Análise de variância para perda de junção epitelial em ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....130

Tabela 3 Análise de variância para comprimento de ramificações de astrócitos do hipocampo em ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....130

Tabela 4	Análise de variância para expressão de IL1- $\beta$ na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	131
Tabela 5	Análise de variância para expressão de IL-10 na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	131
Tabela 6	Análise de variância para expressão de TNF- $\alpha$ na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	131
Tabela 7	Análise de variância para relação TNF- $\alpha$ /IL-10 na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	132
Tabela 8	Análise de variância para relação IL1- $\beta$ /IL-10 na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	132
Tabela 9	Análise de variância para hemoglobina glicada de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico. ....	132
Tabela 10	Análise de variância para glicemia de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	133
Tabela 11	Análise de variância para triacilgliceróis de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	133
Tabela 12	Análise de variância para colesterol total de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	133

Tabela 13	Análise de variância para HDL de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	133
Tabela 14	Análise de variância para LDL de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	134
Tabela 15	Análise de variância para VLDL de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.....	135
Tabela 16	Análise de variância para perda óssea alveolar (morfometria) de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico. ....	135

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE .....	17
1 INTRODUÇÃO .....	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	19
2.1 Doença Periodontal.....	19
2.2 Diabetes <i>Mellitus</i> .....	23
2.3 Doença Periodontal e Diabetes <i>Mellitus</i> .....	26
2.4 Doença Periodontal e Transtornos Psicológicos.....	27
2.5 Doença Periodontal e Exercício Físico .....	29
2.6 Diabetes <i>Mellitus</i> e Exercício Físico.....	30
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
REFERÊNCIAS .....	37
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS .....	49
ARTIGO 1 - EFEITOS DA PRÁTICA DE EXERCÍCIOS FÍSICOS SOBRE A PROGRESSÃO DA DOENÇA PERIODONTAL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA .....	49
ARTIGO 2 - EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR E PREVINE COMPORTAMENTO ANSIOSO EM RATOS COM DOENÇA PERIODONTAL .....	73
ARTIGO 3 - EXERCÍCIO FÍSICO MELHORA O PERFIL GLICÊMICO E ATENUA A PROGRESSÃO DA PERIODONTITE EM RATOS DIABÉTICOS (HFD/STZ) COM DOENÇA PERIODONTAL.....	101
CONCLUSÕES GERAIS .....	127
ANEXO A - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS.....	129
ANEXO B - TABELAS .....	130

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* (DM) é uma desordem metabólica caracterizada pela hiperglicemia crônica decorrente da produção deficiente de insulina (DM tipo 1) ou pela resistência (DM tipo 2) à ação deste hormônio (SEINO et al., 2010). Estima-se que 285 milhões de pessoas no mundo são diabéticas e 90% delas possuem DM tipo 2 (FAZELI FARSANI et al., 2013).

Indivíduos diabéticos podem apresentar complicações cardiovasculares, renais, retinopias e neuropatias, além de maior propensão ao desenvolvimento de afecções bucais severas, dentre elas a doença periodontal (FORBES; COOPER, 2013; PRESHAW et al., 2012). A doença periodontal (DP) abrange um conjunto de alterações inflamatórias que afeta os tecidos de suporte dos dentes, sendo considerada a sexta comorbidade mais prevalente do DM (AL-MASKARI; AL-MASKARI; AL-SUDAIRY, 2011). Considera-se ainda, que exista uma relação bidirecional entre estas doenças, de forma que a presença de DP pode prejudicar o controle glicêmico e o DM pode aumentar a severidade e acelerar a progressão da perda óssea periodontal (KATAGIRI et al., 2013; KOROMANTZOS et al., 2011). Adicionalmente, estudos têm demonstrado relação entre transtornos psicológicos e a DP (DUMITRESCU, 2006; ROSANIA et al., 2009), sendo observado que ansiedade, depressão e estresse, frequentemente, acometem indivíduos com esta doença (KESIM et al., 2012; KHAMBATY; STEWART, 2013).

O tratamento convencional do DM (principalmente o tipo 2) preconiza, geralmente, a mudança de hábitos de vida. Tais mudanças envolvem o controle da ingestão alimentar e incremento da atividade física, sendo, eventualmente, complementada com o uso de hipoglicemiantes orais e/ou administração de insulina, dependendo da gravidade da doença (AJITA et al., 2013). Com relação

à DP, foi relatado que indivíduos fisicamente ativos apresentam menor propensão para desenvolver formas graves desta doença quando comparados àqueles sedentários (BAWADI et al., 2011). Além disso, a prática de exercícios reduz a ansiedade e melhora as funções cerebrais em animais e humanos (ANDERSON; SHIVAKUMAR, 2013; SAUR et al., 2013), sendo observada estimulação na neurogênese no hipocampo (SAUR et al., 2013).

Estudos investigando os efeitos da prática regular de atividade física em pacientes diabéticos portadores de doença periodontal são escassos, especialmente quando aspectos inflamatórios, metabólicos e comportamentais são avaliados simultaneamente. Considerando-se que a prática de exercícios físicos pode modular a resposta imune/inflamatória (BEAVERS; BRINKLEY; NICKLAS, 2010; SANDERS et al., 2009) e melhorar o controle glicêmico (DIJK; LOON, 2015), pode tornar-se uma estratégia interessante no tratamento de pacientes acometidos por ambas as doenças.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Doença Periodontal

A DP ou periodontite é uma inflamação crônica caracterizada pela destruição dos tecidos de suporte do dente, que são o ligamento periodontal e o osso alveolar (AL-MASKARI; AL-MASKARI; AL-SUDAIRY, 2011). A patogênese da DP envolve uma cascata inflamatória iniciada por bactérias presentes na cavidade oral, que formam um biofilme sobre o dente (CEKICI et al., 2014). Cerca de 300 espécies diferentes de microorganismos foram isoladas das bolsas periodontais formadas nos estágios iniciais da doença (MOORE; MOORE, 1994). Entretanto, segundo Hasan e Palmer (2014), existem três hipóteses sobre o papel das bactérias na DP. A primeira delas sugere que a periodontite ocorre devido à acumulação bacteriana, independente de sua composição, sendo os principais microorganismos presentes os seguintes: *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Treponema denticola*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga* e *Tannerella forsythia*. A segunda hipótese sugere que a DP é resultado de uma infecção com um único patógeno específico (sendo a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* associada ao desenvolvimento de periodontite grave), já que vários pacientes possuem o biofilme, mas apenas alguns desenvolvem a forma grave da doença. A terceira hipótese sugere que a DP é resultado de uma infecção gerada pela interação entre um pequeno número de espécies bacterianas específicas, sendo elas as seguintes: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* e *Campylobacter spp* (HASAN; PALMER, 2014).

De qualquer maneira, a adesão de bactérias no dente é o primeiro passo para a instalação da periodontite e a progressão e severidade desta doença

dependerão de fatores como a diminuição da resistência do hospedeiro, aumento do biofilme e/ou aumento na virulência bacteriana (HÄGI et al., 2015; HASAN; PALMER, 2014). Nos estágios iniciais da DP ocorre destruição de fibras de colágeno do ligamento periodontal, culminando na formação de uma bolsa entre a gengiva e o dente, fato associado com perda de junção epitelial (PRESHAW et al., 2012). Isto acontece devido ao recrutamento de fibroblastos e fagócitos mononucleares por bactérias provocando ativação da resposta imune local e secreção de citocinas (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999). A partir deste momento, a destruição do osso alveolar e dos tecidos periodontais pode ocorrer devido a efeitos diretos e/ou indiretos destas bactérias (HENDERSON; NAIR, 2003).

Os mecanismos responsáveis pelo efeito direto de bactérias relacionam-se com a estimulação da síntese de osteoclastos (células responsáveis pela degradação óssea) por lipopolissacarídeos presentes na parede celular destas bactérias (HENDERSON; NAIR, 2003), bem como enzimas produzidas por estes microorganismos como proteases, collagenases, e fosfolipases. Já os mecanismos indiretos envolvem a resposta do hospedeiro frente à infecção, via ativação de monócitos, linfócitos e fibroblastos, que estimulam a produção de citocinas e mediadores inflamatórios (IL-1, IL-6, IL8, TNF- $\alpha$  e Prostaglandina E<sub>2</sub> - PGE<sub>2</sub>) que destroem a matriz óssea (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999). Além disso, ocorre ativação de linfócitos T que expressam o ligante do receptor do fator nuclear kapa B (RANKL) que é um fator de diferenciação de osteoclastos (TAUBMAN et al., 2005).

Uma das principais vias responsáveis pela reabsorção óssea se inicia quando a RANKL se liga em seu receptor (RANK) na superfície de osteoclastos e recruta a proteína adaptadora Receptor de Fator de Necrose Tumoral Associado ao Fator 6 (TRAF6), levando à ativação e translocação do Fator Nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) para o núcleo. O NF- $\kappa$ B aumenta a expressão de c-Fos

promovendo sua interação com o Fator Nuclear Ativado por células T-c1 (NFATc1) para ativação de transcrição gênica de osteoclastos (BOYCE; XING, 2007). Entretanto, outra proteína conhecida como Osteoprotegerina (OPG) é capaz inibir este processo, ao se ligar na RANK, levando à redução na formação de osteoclastos e apoptose destas células pré-existentes. Desta forma, o aumento da expressão de RANKL em relação à OPG é um indicativo de perda óssea, enquanto o contrário indica proteção da matriz óssea contra reabsorção (COCHRAN, 2008).

Alterações, tanto locais como sistêmicas, no perfil inflamatório também podem ser consideradas como sinalizadores da intensidade da DP (PASSOJA et al., 2010; TELES et al., 2010). Nesse sentido, o desequilíbrio entre mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios tem sido utilizado como indicativo de gravidade da PD (CETINKAYA et al., 2013). Citocinas pró-inflamatórias (principalmente IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) frequentemente encontram-se elevadas em pacientes com periodontite crônica, enquanto mediadores anti-inflamatórios como a IL-10 são diminuídos (PASSOJA et al., 2010; TELES et al., 2010). Desta forma, quanto mais agressiva a DP maiores são os valores observados nas relações IL-1 $\beta$ /IL-10 (TELES et al., 2010) e TNF- $\alpha$ /IL-10 (PASSOJA et al., 2010).

Fatores individuais e ambientais podem predispor indivíduos a desenvolver a DP, sendo os principais deles, tabagismo, alcoolismo, diabetes *mellitus*, obesidade, síndrome metabólica, idade e estresse. Adicionalmente, existe a hipótese de que fatores genéticos também podem contribuir para a progressão desta doença (GENCO; BORGNAKKE, 2013). Estima-se que mais da metade da população adulta no mundo tem DP, sendo que cerca de 10% destes apresenta a forma grave da doença, enquanto, aproximadamente, 30% têm grau moderado de DP (BORGNAKKE et al., 2013).

Estágios avançados da periodontite podem ocasionar desconforto, dor, prejudicar a mastigação e promover perda dentária irreversível (GOYAL et al., 2014). Além disso, a DP é considerada fator de risco para o desenvolvimento de comorbidades como doenças cardiovasculares, hipertensão, acidente vascular cerebral, diabetes, osteoporose, artrite reumatoide, disfunção erétil, nascimento de prematuros (KOSHI et al., 2012; LEE et al., 2015). A predisposição no aparecimento destas doenças, em especial as vasculares, pode estar relacionada ao aumento sistêmico de citocinas pró-inflamatórias (proteína C reativa, IL-6, TNF- $\alpha$ ), bem como ao fato de que alguns patógenos periodontais (principalmente *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) podem invadir células epiteliais e acelerar o processo aterosclerótico por aumentar a agregação de lipoproteínas de baixa densidade (CULLINAN; SEYMOUR, 2013).

Considerando os riscos à saúde oral e sistêmica gerados pela DP, sua prevenção e tratamento podem melhorar o estado de saúde do indivíduo, bem como evitar ou atenuar as complicações associadas (CULLINAN; SEYMOUR, 2013). A higiene oral adequada é considerada essencial para profilaxia e terapia da DP (THROWER; PINNEY; WILSON, 1997), sendo que o tratamento tradicional envolve a remoção do biofilme por raspagem e alisamento radicular, além de curetagem e remoção cirúrgica do tecido afetado (WANG et al., 2012). Adicionalmente, estudos recentes têm investigado maneiras de evitar a progressão da periodontite, agindo principalmente, na melhoria da resposta inflamatória/imunológica do hospedeiro (MESSORA et al., 2013; SILVA et al., 2015). Isto se torna ainda mais interessante, quando um mesmo agente atua contra a DP e uma comorbidade, como observado em estudo recente do nosso grupo onde betaglucanos atenuaram a perda óssea e melhoraram a glicemia de animais diabéticos (SILVA et al., 2015). Nesse sentido, a atividade física se

torna interessante já que modula tanto o metabolismo quanto a resposta imunológica do indivíduo (BLONDE, 2010).

## **2.2 Diabetes *Mellitus***

O Diabetes *Mellitus* (DM) é uma doença metabólica caracterizada pela hiperglicemia crônica oriunda da ineficiência na ação da insulina (SEINO et al., 2010). Tal ineficiência pode ocorrer em decorrência da produção ausente ou em pequena quantidade deste hormônio (DM tipo 1), bem como em virtude da resistência à sua ação em tecidos alvo (DM tipo 2) (LE ROITH; ZICK, 2001). Deficiências na produção de insulina, geralmente, ocorrem devido a reações autoimunes contra as células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans pancreáticas, caracterizando o DM tipo 1 (RICHARDSON et al., 2013). Todavia, alguns pacientes com este tipo de DM não apresentam mediadores de doença autoimune, sendo sugerida uma subdivisão classificada como diabetes tipo 1 idiopática ou tipo 1B (ATKINSON; EISENBARTH; MICHELS, 2014). Além disso, mesmo sendo considerada que a principal causa da autoimunidade frente a células  $\beta$  seja em razão de fatores genéticos, existe a hipótese de que infecções virais prévias, também, podem predispor ao desenvolvimento do DM tipo 1 (CASANOVA; HUGHES; PRESHAW, 2014; RICHARDSON; HORWITZ, 2014). Tal hipótese foi levantada pelo fato de que vários pacientes com predisposição ou que desenvolveram DM haviam sido infectados previamente, sendo observado um aumento na concentração de Interferon 1 (IFN *signature*) semelhantes ao verificado em indivíduos com doenças autoimunes (FERREIRA et al., 2014; RICHARDSON; HORWITZ, 2014). O suposto mecanismo, para explicar este fato, inicia-se com a resposta antiviral do hospedeiro, detectado pela IFN *signature* na circulação e sítios de infecção onde, posteriormente, as células de defesa migram. No pâncreas, este IFN estimula a expressão exagerada de moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) classe 1,

que apresentam as células  $\beta$  e antígenos virais para a infiltração celular. Isto causa expansão e maturação de linfócitos B que irão produzir anticorpos específicos contra os vírus e células  $\beta$  iniciando, então, uma reação autoimune (RICHARDSON; HORWITZ, 2014).

Quando o diabetes ocorre devido à resistência à ação da insulina, geralmente associado à dislipidemia, obesidade e sedentarismo, caracteriza-se o DM tipo 2 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015). Este tipo da doença acomete cerca de 370 milhões de pessoas no mundo, havendo uma estimativa de aumento em razão do crescimento nos casos de obesidade (CHEN; MAGLIANO; ZIMMET, 2012; KAHN; COOPER; DEL PRATO, 2014). O desenvolvimento do DM tipo 2 ocorre por causa de fatores genéticos e ambientais que, isolados ou associados, causam hiperglicemia crônica devido à resistência à ação da insulina (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006). Entretanto, mesmo que o conceito tradicional de DM tipo 2 fosse caracterizado, unicamente, pela resistência à insulina e hiperinsulinemia (WEYER et al., 2001), atualmente, admite-se que ocorre uma diminuição progressiva na secreção de insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015). Esta diminuição ocorre porque a hiperglicemia crônica e lipotoxicidade, gerada pela dislipidemia, provoca apoptose de células  $\beta$  pancreáticas (KAHN; COOPER; DEL PRATO, 2014).

O controle da glicemia é o alvo do tratamento de ambos os tipos de DM (CHAN et al., 2009). Os tratamentos medicamentosos envolvem, na maioria dos casos, o uso de insulina e hipoglicemiantes (NORRIS et al., 2013). Atualmente existe uma preocupação com o tipo de insulina utilizada pelo fato de que a insulina de origem animal, utilizada antigamente, poderia gerar resposta autoimune ou alergia no paciente. Desta forma, o uso de insulina humana recombinante diminuiu a incidência destes casos (ROJAS et al., 2014). Com relação ao uso de hipoglicemiantes orais, a metformina é uma das mais

utilizadas por indivíduos diabéticos tipo 2 (ROTELLA; MONAMI; MANNUCCI, 2006). No entanto, muitas vezes, os pacientes necessitam de medicamentos ou tratamentos adjuvantes envolvendo, inclusive, o uso de insulina para manter o controle glicêmico adequado (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

A administração de insulina exógena promove os efeitos desejados, porém não evita alguns problemas associados que são retinopatias, cardiopatias, problemas circulatórios (ATKINSON; EISENBARTH; MICHELS, 2014). As retinopatias no diabetes ocorrem em decorrência de combinação de vários fatores como lesões causadas nos microvasos oculares, formação de sorbitol na retina, microaneurismas, aumento no estresse oxidativo local, dentre outros (CAI; BOULTON, 2002). As cardiopatias e problemas circulatórios, em indivíduos diabéticos, geralmente, ocorrem em virtude de lesões micro e macrovasculares decorrentes da hiperglicemia crônica, aumento no estresse oxidativo e do perfil pró – inflamatório (que estimula a expressão de moléculas de adesão no endotélio) bem como o aumento dos produtos finais da glicação avançada – AGE's (FORBES; COOPER, 2013).

Devido às complicações mencionadas, os gastos diretos e indiretos com o DM geram despesas bilionárias, sendo que, apenas nos Estados Unidos, em 2012, estes gastos foram em torno de 245 bilhões de dólares (BUYSMAN et al., 2015). Adicionalmente, considerando o aumento mundial no índice de obesidade, estima-se que os custos médicos com o DM tendem a aumentar ainda mais (SEURING; ARCHANGELIDI; SUHRCKE, 2015), já que a obesidade e o sedentarismo são os principais fatores para o desenvolvimento da maioria dos casos de diabetes no mundo (TURI et al., 2016). Desta forma, estratégias adjuvantes como cuidados com complicações agudas e crônicas, controle nutricional e prática de atividades físicas podem ser utilizadas no tratamento do diabetes (BLONDE, 2010).

### 2.3 Doença Periodontal e Diabetes *Mellitus*

Pacientes diabéticos, frequentemente, são acometidos pela DP, pois quanto pior o controle glicêmico maior a gravidade da periodontite (CASANOVA; HUGHES; PRESHAW, 2014). Adicionalmente, a presença de DP pode piorar o controle glicêmico tanto em indivíduos diabéticos (TAYLOR et al., 1996) quanto não diabéticos (DEMMER et al., 2010). Desta forma, existe uma relação bidirecional entre a DP e o DM, em que a presença de uma destas doenças pode predispor à piora da outra (KATAGIRI et al., 2013).

A maior gravidade da DP, em indivíduos diabéticos, pode ocorrer em virtude de alterações na resposta imune do paciente, envolvendo a disfunção nas células da primeira linha de defesa que deixa o organismo susceptível à formação de biofilme, bem como ao elevado nível de citocinas pró-inflamatórias (como TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$ ) que aceleram a destruição dos tecidos periodontais (MEALEY, 2006). Adicionalmente, os maiores níveis de AGE's, frequentemente observados em pacientes com controle glicêmico empobrecido, prejudica o remodelamento ósseo além de contribuir para o aumento local de mediadores pró-inflamatórios (BASCONES-MARTINEZ et al., 2011; MEALEY, 2006).

Já a piora no controle glicêmico, observado em indivíduos com DP, acontece devido ao fato de que, assim como em outras infecções, ocorre aumento na resistência à ação da insulina (LLAMBÉS; ARIAS-HERRERA; CAFFESSE, 2015). Nesse sentido, o aumento em citocinas pró-inflamatórias oriundas da DP (especialmente a TNF- $\alpha$ ) suprime a ação da insulina por impedir a ligação deste hormônio em seu receptor (NISHIMURA et al., 2003). Tal fato acontece, pois o TNF- $\alpha$  pode estimular a fosforilação de resíduos de serina do receptor de insulina, diminuindo sua capacidade de transdução e consequente ativação da cascata intracelular que promove expressão do Transportador de Glicose tipo 4 ou GLUT-4 (DE LUCA; OLEFSKY, 2008). Adicionalmente, a

diminuição nos níveis de IL-10, frequentemente observada em pacientes com DP (ARCHANA et al., 2014; EBERSOLE et al., 2014), também, está associada com aumento na resistência à insulina (DE LUCA; OLEFSKY, 2008).

Considera-se que a DP é a sexta complicação mais prevalente em indivíduos diabéticos (ROBERTS-THOMSON et al., 2014), sendo que estudos clínicos demonstram que tal prevalência é superior a 60% (RAJHANS et al., 2011; ZHOU et al., 2015). Desta forma, devido ao fato de que 90% dos indivíduos diabéticos são do tipo 2 e apresentam alta prevalência de DP (APOORVA; SRIDHAR; SUCHETHA, 2013), torna-se necessário investigar formas de evitar a progressão de ambas as doenças. Adicionalmente, foi observado que a gravidade e a prevalência da DP é maior em pacientes com DM tipo 2 quando comparados aos do tipo 1, por causa da associação entre a resistência insulínica e disfunção de células  $\beta$  pancreáticas (MERCHANT et al., 2011).

#### **2.4 Doença Periodontal e Transtornos Psicológicos**

Depressão e ansiedade frequentemente acometem indivíduos com DP (KESIM et al., 2012; KHAMBATY; STEWART, 2013). Considera-se que isto ocorra pelo fato de que pacientes com estes transtornos psicológicos tendem a diminuir seus cuidados com higiene e saúde bucal, além de aumentar a propensão ao desenvolvimento de hábitos como tabagismo (BERK et al., 2013). Em razão disto, estudos consideram que estes transtornos atuam como predisponentes à progressão da DP (VETTORE et al., 2005; WARREN et al., 2014). Todavia, é possível que a DP predisponha ao aparecimento destes transtornos psicológicos em humanos devido a fatores como isolamento social, vergonha e solidão (BERK et al., 2013). Além disso, o aumento em mediadores pró-inflamatórios sistêmicos, também, pode predispor ao desenvolvimento de ansiedade e depressão nestes pacientes (HOWREN; LAMKIN; SULS, 2009).

No atual estágio do conhecimento, ainda não foi consolidada esta relação em que a DP atua como causadora destes transtornos. Desta forma, é importante a realização de estudos em modelo animal avaliando os efeitos da DP sobre parâmetros comportamentais relacionados à ansiedade e depressão.

Existem diversos métodos utilizados para avaliar o comportamento ansioso e/ou depressivo em modelos animais, como por exemplo: o teste do campo aberto, teste da caixa claro/escuro, labirinto em cruz elevada e o teste *marble burying* (GENTILE et al., 2015; LAZIC, 2015). Este último teste, em especial, permite avaliar tanto o comportamento ansioso quanto depressivo em roedores (PANDEY et al., 2009).

O teste *marble burying* consiste em avaliar o comportamento que roedores ansiosos e depressivos têm em enterrar objetos novos, mas não aversivos, tais como pellets e bolas de gude (THOMAS et al., 2009). Tal relação foi observada em razão do fato de que medicamentos ansiolíticos ou antidepressivos inibem ou diminuem este comportamento (PANDEY et al., 2009). Este teste consiste, basicamente, em distribuir uniformemente uma determinada quantidade de bolas de gude sobre a maravalha (nova, limpa e seca) em uma caixa com as mesmas dimensões da em que o animal é alojado (PANDEY et al., 2009; THOMAS et al., 2009). Posteriormente, o roedor deve permanecer na caixa por um determinado período de tempo (geralmente 30 minutos) e, então, ser retirado para a avaliação das peças enterradas (NICOLAS; KOLB; PRINSSSEN, 2006). Algumas variações neste teste podem ser observadas na literatura, como, por exemplo: o número de bolas de gude, a profundidade em que a peça deve estar para ser considerada como enterrada e o tempo de permanência dos animais na caixa. Tais variações são realizadas, geralmente, por causa da espécie (ratos ou camundongos) ou critérios não informados pelos autores (NICOLAS; KOLB; PRINSSSEN, 2006; PANDEY et al., 2009; THOMAS et al., 2009).

## 2.5 Doença Periodontal e Exercício Físico

Diversos estudos têm investigado a relação entre a prática de exercícios e a saúde periodontal (AL-ZAHRANI; BORAWSKI; BISSADA, 2005; HAYASHIDA et al., 2009; JÖNSSON et al., 2014). Entretanto, os resultados são contraditórios, mostrando que a prática de atividade física melhora ou impede a progressão da DP (AL-ZAHRANI, 2006; AL-ZAHRANI; BORAWSKI; BISSADA, 2005; BAWADI et al., 2011), enquanto outros não observam diferenças (CUETO et al., 2005; DEMMER et al., 2010; IWASAKI et al., 2016) ou relatam piora (ISLAM et al., 2015; SPALJ et al., 2008).

O exercício regular pode melhorar a resposta imunológica do hospedeiro, deixando o organismo menos susceptível a infecções (NIEMAN, 2011), justificando os possíveis efeitos benéficos da atividade física sobre a periodontite. Adicionalmente, foi relatado que o exercício habitual, em intensidade moderada, aumenta a concentração e secreção de Imunoglobulina A Secretora (SIgA) salivar (AKIMOTO et al., 2003; TROCHIMIAK; HÜBNER-WOŹNIAK, 2012). Esta IgA protege a superfície da mucosa oral, prevenindo a aderência de bactérias e dificultando o aparecimento de infecções orais (HASAN; PALMER, 2014). Desta forma, a prática de exercício pode atuar com ação preventiva, podendo ser prescrita para grupos com predisposição ao desenvolvimento de DP (TELFORD; COULTER; MURRAY, 2011).

Mesmo nos estudos onde não foram observadas alterações significativas no *status* periodontal, frequentemente, relata-se uma tendência de melhoria neste parâmetro em indivíduos fisicamente ativos. Tal fato pode ser observado nos estudos de Ha et al. (2014), Hayashida et al. (2009), Iwasaki et al. (2016), Jönsson et al. (2014) e Sanders et al. (2009). Adicionalmente, a prática de Tai Chi, por seis meses, promoveu melhoria no *status* periodontal, sendo observado aumento no *Status* Antioxidante Total (TAS) e nos níveis de Superóxido

Dismutase (SOD), bem como diminuição na concentração de IL1- $\beta$  e IL-6 na saliva, além de redução no Índice de DP (MENDOZA-NÚÑEZ et al., 2014).

Estudos avaliando os efeitos do exercício sobre a DP em modelo animal são escassos. Uma busca realizada na base de dados PUBMED, em janeiro de 2016, utilizando as palavras “*exercise*”, “*periodontal disease*”, “*physical activity*” e “*periodontitis*”, retornou apenas um artigo utilizando modelo animal. Neste estudo, camundongos foram induzidos à DP com ligadura embebida com *Porphyromonas gingivalis* e submetidos a quatro semanas de exercício em esteira. Foi observado, ao final, que a perda óssea alveolar foi menor nos animais treinados e os títulos de bactérias diminuíram nos animais obesos (consumindo dieta comercial) submetidos ao exercício (ZHOU; LEEMAN; AMAR, 2011).

No estágio atual do conhecimento, pouco se sabe sobre os efeitos da atividade física sobre a perda óssea de indivíduos diabéticos com doença periodontal. Desta forma, é necessário investigar tais efeitos já que o exercício pode promover melhorias sobre o metabolismo e a resposta imunológica.

## **2.6 Diabetes Mellitus e Exercício Físico**

O exercício físico é uma das estratégias não medicamentosas mais indicadas para a melhoria do controle glicêmico em pacientes diabéticos (BLONDE, 2010). Isto acontece pelo fato de que, durante e após o exercício, ocorre aumento na captação de glicose, principalmente, pelos tecidos muscular e adiposo (SHEPHERD; KAHN, 1999; THOMPSON et al., 2012). No indivíduo diabético, tanto o exercício agudo quanto o crônico promovem alterações em vários mecanismos, favorecendo a captação e utilização da glicose circulante, gerando benefícios tanto no DM tipo 1 quanto no tipo 2 (LIESE et al., 2013).

Adicionalmente, a prática de exercício físico tem sido considerada uma das melhores alternativas para prevenção e tratamento do DM tipo 2 em

indivíduos obesos ou com sobrepeso (STANFORD; MIDDELBEEK; GOODYEAR, 2015). Em indivíduos com DM tipo 2, a resistência dos adipócitos à ação da insulina resulta no aumento de ácidos graxos livres (AGL's) circulantes que, por sua vez, aumentam ainda mais a resistência insulínica em miócitos e adipócitos (CORNELL, 2015). O exercício físico aeróbico regular causa aumento no número de capilares e na capacidade oxidativa dos miócitos, estimulando a utilização de AGL's por este tecido e diminuindo as concentrações plasmáticas destes metabólitos (TEIXEIRA-LEMOS et al., 2011). Estas alterações contribuem para a melhoria da resistência à insulina, já que altas concentrações de AGL's circulantes estão relacionadas à resistência a este hormônio (HOCKING et al., 2013) e, no interior de miócitos e adipócitos, pode prejudicar a translocação do GLUT-4 (TEIXEIRA-LEMOS et al., 2011).

O músculo esquelético é o principal tecido responsável pela depleção da glicemia pós-prandial, sendo os transportadores de glicose (GLUT) responsáveis pelo influxo desta substância para as células de forma a gerar energia ou armazená-la na forma de glicogênio (ZORZANO; PALACÍN; GUMÀ, 2005). As principais isoformas destes transportadores no tecido muscular são os GLUT-1 e GLUT-4, havendo predominância deste último (VIÑALS et al., 1997). O GLUT-4 é uma proteína estocada em vesículas intracelulares que, no músculo, são translocadas para os túbulos transversos em resposta à ligação da insulina em seu receptor de membrana, ou devido ao estímulo mecânico promovido pela contração muscular (SHEPHERD; KAHN, 1999). Tal estímulo mantém elevadas as concentrações de íons cálcio ( $Ca^{2+}$ ) no sarcoplasma e ativa a enzima *5'-AMP-activated protein kinase* (AMPK) (SHEPHERD; KAHN, 1999; WRIGHT et al., 2004).

O aumento de  $Ca^{2+}$  citosólico sinaliza a elevação da demanda energética, fato que estimula a maior expressão do GLUT-4 e o deslocamento das vesículas contendo este transportador para os túbulos transversos (WRIGHT et al., 2004).

Entretanto, um estudo mais recente mostra que o aumento da captação de glicose no músculo, estimulado pelo exercício, ocorre, principalmente, pela ação da AMPK (JENSEN et al., 2014). A AMPK funciona como um sensor do *status* de energia celular, respondendo a aumentos abruptos nos níveis de Adenosina Monofosfato (AMP) e Adenosina Difosfato (ADP) que ocorrem nos miócitos durante o exercício físico (O'NEILL, 2013). Esta enzima promove aumento na captação de glicose, possivelmente, por fosforilar os receptores de insulina (IR) ou seu substrato (IRS-1), bem como estimular proteínas que causam a translocação das vesículas contendo GLUT-4 (MCGEE; HARGREAVES, 2006; O'NEILL, 2013). Além disso, a AMPK está envolvida na síntese de glicogênio muscular, devido ao aumento de substrato promovido pela captação da glicose circulante (O'NEILL, 2013).

Outro mecanismo envolvido no aumento da captação de glicose pelo exercício é a elevação nos níveis de fator de crescimento semelhante à insulina-1 e 2 (IGF-1 e IGF-2) (GOMES et al., 2009; KIM et al., 2015; SHEPHERD; KAHN, 1999). Tanto o IGF-1 quanto o IGF-2 têm alta homologia com a insulina e são capazes de estimular a translocação do GLUT-4 nos adipócitos e nos músculos (SHEPHERD; KAHN, 1999).

A melhoria do controle glicêmico frente ao exercício ocorre, também, devido a modulações nos adipócitos (BÖHM et al., 2015; STANFORD; MIDDELBECK; GOODYEAR, 2015). A prática regular de exercício físico diminui os níveis de gordura e tamanho de adipócitos (STANFORD; MIDDELBECK; GOODYEAR, 2015), bem como a resistência à insulina no tecido adiposo por modular a síntese e liberação de adipocinas, aumentar a atividade mitocondrial e ativar o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (Ppar  $\gamma$ ) neste tecido (BÖHM et al., 2015). Além disso, o exercício físico promove a conversão de tecido adiposo branco em tecido adiposo marrom (processo conhecido como *browning*), que tem maior

capacidade termogênica (BÖHM et al., 2015; STANFORD; MIDDELBEEK; GOODYEAR, 2015). Assim, enquanto o tecido adiposo branco armazena energia, na forma de triacilgliceróis e libera esta energia na forma de AGL's e glicerol, o tecido adiposo marrom libera a energia da oxidação de glicose e lipídios na forma de calor. Este aumento no *clearence* e oxidação do excesso de glicose e lipídios melhora o controle glicêmico e diminui a resistência periférica à insulina (SANCHEZ-DELGADO et al., 2015).

Outro mecanismo de atuação nos adipócitos em que o exercício está envolvido é a diminuição de mediadores pró-inflamatórios e, principalmente, aumento de citocinas anti-inflamatórias neste tecido (BRUUN et al., 2006; THOMPSON et al., 2012). A maior secreção de adiponectina estimulada pelo exercício melhora a sensibilidade à insulina em vários tecidos e protege o pâncreas endócrino contra a ação de citocinas pró-inflamatórias (TEIXEIRA-LEMOS et al., 2011). Assim, o aumento de citocinas anti-inflamatórias pode melhorar tanto a resistência à insulina quanto atenuar a apoptose de células  $\beta$  pancreáticas (TEIXEIRA-LEMOS et al., 2011).

Com relação ao aumento na captação de glicose pelos adipócitos, foi demonstrado que quatro semanas de exercício físico foi suficiente para aumentar a expressão do GLUT-4 em adipócitos e miócitos de pacientes diabéticos tipo 2 (HUSSEY et al., 2011). Tal fato demonstra que, contraditoriamente, o tecido adiposo, também, contribui para melhoria no metabolismo da glicose frente ao exercício.



### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Considerando a alta prevalência e aumento na incidência de DM tipo 2 e, conseqüentemente, de DP, tornam-se necessárias alternativas de controle e prevenção destas doenças. Nesse sentido, o exercício físico pode se tornar uma estratégia em potencial devido ao fato de promover melhorias tanto metabólicas quanto imunológicas. Além disso, no estado atual do conhecimento, não se sabe os efeitos do exercício físico sobre a progressão da DP em indivíduos diabéticos.



## REFERÊNCIAS

- AJITA, M. et al. Periodontal disease and type 1 diabetes *mellitus*: associations with glycemic control and complications: an Indian perspective. **Diabetes & Metabolic Syndrome**, Amsterdam, v. 7, n. 2, p. 61-63, Jan. 2013.
- AKIMOTO, T. et al. Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. **British Journal of Sports Medicine**, Loughborough, v. 37, n. 1, p. 76-79, Feb. 2003.
- AL-MASKARI, A. Y.; AL-MASKARI, M. Y.; AL-SUDAIRY, S. Oral manifestations and complications of diabetes *mellitus*: a review. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, Muscat, v. 11, n. 2, p. 179-186, May 2011.
- AL-ZAHRANI, M. S. Increased intake of dairy products is related to lower periodontitis prevalence. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 77, n. 2, p. 289-294, Feb. 2006.
- AL-ZAHRANI, M. S.; BORAWSKI, E. A.; BISSADA, N. F. Increased physical activity reduces prevalence of periodontitis. **Journal of Dentistry**, Bristol, v. 33, n. 9, p. 703-710, Oct. 2005.
- AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. The pathogenesis of periodontal diseases. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 70, n. 4, p. 457-470, Apr. 1999.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes-2015 abridged for primary care providers. **Clinical Diabetes**, Alexandria, v. 33, n. 2, p. 97-111, Apr. 2015.
- ANDERSON, E.; SHIVAKUMAR, G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. **Frontiers in Psychiatry**, Lausanne, v. 27, p. 1-4, Jan. 2013.
- APOORVA, S. M.; SRIDHAR, N.; SUCHETHA, A. Prevalence and severity of periodontal disease in type 2 diabetes *mellitus* (non-insulin-dependent diabetes *mellitus*) patients in Bangalore city: an epidemiological study. **Journal of Indian Society of Periodontology**, Mumbai, v. 17, n. 1, p. 25-29, Jan. 2013.
- ARCHANA, A. et al. Correlation between circulatory and salivary IL 10 levels in periodontal health and disease: a report. **International Journal of Dental Sciences and Research**, Newark, v. 2, n. 4B, p. 7-10, Aug. 2014.

ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G. S.; MICHELS, A. W. Type 1 diabetes. **Lancet**, London, v. 383, n. 9911, p. 69-82, Jan. 2014.

BASCONES-MARTINEZ, A. et al. Periodontal disease and diabetes: review of the literature. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, Valencia, v. 16, n. 6, p. e722-729, Sept. 2011.

BAWADI, H. A. et al. The association between periodontal disease, physical activity and healthy diet among adults in Jordan. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 46, n. 1, p. 74-81, Feb. 2011.

BEAVERS, K. M.; BRINKLEY, T. E.; NICKLAS, B. J. Effect of exercise training on chronic inflammation. **Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemistry**, Amsterdam, v. 411, n. 11/12, p. 785-793, June 2010.

BERK, M. et al. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? **BMC Medicine**, London, v. 11, n. 200, p. 2-16, Jan. 2013.

BLONDE, L. Current antihyperglycemic treatment guidelines and algorithms for patients with type 2 diabetes *mellitus*. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 123, n. 3, p. S12-18, Mar. 2010. Supplement.

BÖHM, A. et al. Exercise and diabetes: relevance and causes for response variability. **Endocrine**, Basingstoke, v. 51, n. 3, p. 390-401, Dec. 2015.

BORGNAKKE, W. S. et al. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 84, n. 4, p. S135-152, Apr. 2013. Supplement.

BOYCE, B. F.; XING, L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. **Arthritis Research & Therapy**, London, v. 9, p. 1-7, Jan. 2007. Supplement 1.

BRUUN, J. M. et al. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v. 290, n. 5, p. E961-967, May 2006.

BUYSMAN, E. K. et al. Impact of medication adherence and persistence on clinical and economic outcomes in patients with type 2 diabetes treated with

liraglutide: a retrospective cohort study. **Advances in Therapy**, New York, v. 32, n. 4, p. 341-355, Apr. 2015.

CAI, J.; BOULTON, M. The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. **Eye**, London, v. 16, n. 3, p. 242-260, May 2002.

CASANOVA, L.; HUGHES, F. J.; PRESHAW, P. M. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. **British Dental Journal**, London, v. 217, n. 8, p. 433-437, Oct. 2014.

CEKICI, A. et al. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 64, n. 1, p. 57-80, Feb. 2014.

CETINKAYA, B. et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 84, n. 1, p. 84-93, Jan. 2013.

CHAN, J. C. N. et al. Multifaceted determinants for achieving glycemic control: the International Diabetes Management Practice Study (IDMPS). **Diabetes Care**, New York, v. 32, n. 2, p. 227-233, Feb. 2009.

CHEN, L.; MAGLIANO, D. J.; ZIMMET, P. Z. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes *mellitus*--present and future perspectives. **Nature Reviews. Endocrinology**, London, v. 8, n. 4, p. 228-236, Apr. 2012.

COCHRAN, D. L. Inflammation and bone loss in periodontal disease. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 79, n. 8, p. 1569-1576, Aug. 2008. Supplement.

CORNELL, S. Continual evolution of type 2 diabetes: an update on pathophysiology and emerging treatment options. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, Bethesda, v. 11, p. 621-632, Jan. 2015.

CUETO, A. et al. Periodontitis as risk factor for acute myocardial infarction: a case control study of Spanish adults. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 40, n. 1, p. 36-42, Feb. 2005.

CULLINAN, M. P.; SEYMOUR, G. J. Periodontal disease and systemic illness: will the evidence ever be enough? **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 62, n. 1, p. 271-86, June 2013.

DE LUCA, C.; OLEFSKY, J. M. Inflammation and insulin resistance. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 582, n. 1, p. 97-105, Jan. 2008.

DEMMER, R. T. et al. Periodontal status and A1C change: longitudinal results from the study of health in Pomerania (SHIP). **Diabetes Care**, Alexandria, v. 33, n. 5, p. 1037-1043, May 2010.

DIJK, J. W. van; LOON, L. J. C. van. Exercise strategies to optimize glycemic control in type 2 diabetes: a continuing glucose monitoring perspective. **Diabetes Spectrum**, Alexandria, v. 28, n. 1, p. 24-31, Jan. 2015.

DUMITRESCU, A. L. Psychological perspectives on the pathogenesis of periodontal disease. **Romanian Journal of Internal Medicine**, Bucuresti, v. 44, n. 3, p. 241-260, Jan. 2006.

EBERSOLE, J. L. et al. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 41, n. 9, p. 853-861, Sept. 2014.

FAZELI FARSAANI, S. et al. Global trends in the incidence and prevalence of type 2 diabetes in children and adolescents: a systematic review and evaluation of methodological approaches. **Diabetologia**, New York, v. 56, n. 7, p. 1471-1488, July 2013.

FERREIRA, R. C. et al. A type I interferon transcriptional signature precedes autoimmunity in children genetically at risk for type 1 diabetes. **Diabetes**, New York, v. 63, n. 7, p. 2538-2550, July 2014.

FORBES, J. M.; COOPER, M. E. Mechanisms of diabetic complications. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 93, n. 1, p. 137-88, Jan. 2013.

GENCO, R. J.; BORGNAKKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 62, n. 1, p. 59-94, June 2013.

GENTILE, A. et al. Exploring the role of microglia in mood disorders associated with experimental multiple sclerosis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, Lausanne, v. 9, p. 1-10, Jan. 2015.

GOMES, R. J. et al. Growth factors and glucose homeostasis in diabetic rats: effects of exercise training. **Cell Biochemistry and Function**, Guildford, v. 27, n. 4, p. 199-204, June 2009.

GOYAL, G. et al. Current nanotechnological strategies for an effective delivery of drugs in treatment of periodontal disease. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, Boca Raton, v. 31, n. 2, p. 89-119, Jan. 2014.

HA, J. E. et al. Association between periodontitis and preeclampsia in never-smokers: a prospective study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 41, n. 9, p. 869-874, Sept. 2014.

HÄGI, T. T. et al. A biofilm pocket model to evaluate different non-surgical periodontal treatment modalities in terms of biofilm removal and reformation, surface alterations and attachment of periodontal ligament fibroblasts. **PloS One**, San Francisco, v. 10, n. 6, p. e0131056, Jan. 2015.

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

HAYASHIDA, H. et al. Relationship between periodontal status and HbA1c in nondiabetics. **Journal of Public Health Dentistry**, Raleigh, v. 69, n. 3, p. 204-206, Jan. 2009.

HENDERSON, B.; NAIR, S. P. Hard labour: bacterial infection of the skeleton. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 11, n. 12, p. 570-577, Dec. 2003.

HOCKING, S. et al. Adiposity and insulin resistance in humans: the role of the different tissue and cellular lipid depots. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 34, n. 4, p. 463-500, Apr. 2013.

HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. **Psychosomatic Medicine**, New York, v. 71, n. 2, p. 171-186, Feb. 2009.

HUSSEY, S. E. et al. Exercise training increases adipose tissue GLUT4 expression in patients with type 2 diabetes. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, Oxford, v. 13, n. 10, p. 959-962, Oct. 2011.

ISLAM, S. A. et al. Association of periodontitis with insulin resistance,  $\beta$ -cell function, and impaired fasting glucose before onset of diabetes. **Endocrine Journal**, Tokyo, v. 62, n. 11, p. 981-989, Jan. 2015.

IWASAKI, M. et al. Longitudinal relationship of severe periodontitis with cognitive decline in older Japanese. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, 2016. In press.

JENSEN, T. E. et al. Contraction-stimulated glucose transport in muscle is controlled by AMPK and mechanical stress but not sarcoplasmic reticulum Ca(2+) release. **Molecular Metabolism**, New York, v. 3, n. 7, p. 742-753, Oct. 2014.

JÖNSSON, D. et al. Circulating endothelial progenitor cells in periodontitis. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 85, n. 12, p. 1739-1747, Dec. 2014.

KAHN, S. E.; COOPER, M. E.; DEL PRATO, S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. **Lancet**, London, v. 383, n. 9922, p. 1068-1083, Mar. 2014.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, London, v. 444, n. 7121, p. 840-846, Dec. 2006.

KATAGIRI, S. et al. Effect of glycemic control on periodontitis in type 2 diabetic patients with periodontal disease. **Journal of Diabetes Investigation**, Tokyo, v. 4, n. 3, p. 320-325, May 2013.

KESIM, S. et al. The relationship between periodontal disease severity and state-trait anxiety level. **JPMA - The Journal of the Pakistan Medical Association**, Karachi, v. 62, n. 12, p. 1304-1308, Dec. 2012.

KHAMBATY, T.; STEWART, J. C. Associations of depressive and anxiety disorders with periodontal disease prevalence in young adults: analysis of 1999-2004 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) data. **Annals of Behavioral Medicine**, Knoxville, v. 45, n. 3, p. 393-397, June 2013.

KIM, T. et al. Intense walking exercise affects serum IGF-1 and IGFBP3. **Journal of Lifestyle Medicine**, Seoul, v. 5, n. 1, p. 21-25, Mar. 2015.

KOROMANTZOS, P. A. et al. A randomized, controlled trial on the effect of non-surgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes: part I, effect on periodontal status and glycaemic control. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 38, n. 2, p. 142-147, Feb. 2011.

KOSHI, E. et al. Risk assessment for periodontal disease. **Journal of Indian Society of Periodontology**, Mumbai, v. 16, n. 3, p. 324-328, July 2012.

LAZIC, S. E. Analytical strategies for the marble burying test: avoiding impossible predictions and invalid p-values. **BMC Research Notes**, London, v. 8, n. 141, p. 1-10, Jan. 2015.

LE ROITH, D.; ZICK, Y. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 24, n. 3, p. 588-597, Mar. 2001.

LEE, J. H. et al. Association of lifestyle-related comorbidities with periodontitis: a nationwide cohort study in Korea. **Medicine**, Baltimore, v. 94, n. 37, p. e1567, Sept. 2015.

LIESE, A. D. et al. Physical activity, sedentary behaviors, physical fitness, and their relation to health outcomes in youth with type 1 and type 2 diabetes: a review of the epidemiologic literature. **Journal of Sport and Health Science**, Shanghai, v. 2, n. 1, p. 21-38, Mar. 2013.

LLAMBÉS, F.; ARIAS-HERRERA, S.; CAFFESSE, R. Relationship between diabetes and periodontal infection. **World Journal of Diabetes**, Pleasanton, v. 6, n. 7, p. 927-935, July 2015.

MCGEE, S. L.; HARGREAVES, M. Exercise and skeletal muscle glucose transporter 4 expression: molecular mechanisms. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 395-399, Apr. 2006.

MEALEY, B. L. Periodontal disease and diabetes: a two-way street. **Journal of the American Dental Association (1939)**, Chicago, v. 137, n. 10, p. 26S-31S, Oct. 2006. Supplement.

MENDOZA-NÚÑEZ, V. M. et al. Tai Chi exercise increases SOD activity and total antioxidant status in saliva and is linked to an improvement of periodontal disease in the elderly. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Cairo, v. 2014, p. 603853, Jan. 2014.

MERCHANT, A. T. et al. Associations between periodontal disease and selected risk factors of early complications among youth with type 1 and type 2 diabetes: a pilot study. **Pediatric Diabetes**, Copenhagen, v. 12, n. 6, p. 529-535, Sept. 2011.

MESSORA, M. R. et al. Probiotic therapy reduces periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 84, n. 12, p. 1818-1826, Dec. 2013.

MOORE, W. E.; MOORE, L. V. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 5, p. 66-77, June 1994.

NICOLAS, L. B.; KOLB, Y.; PRINSSEN, E. P. M. A combined marble burying-locomotor activity test in mice: a practical screening test with sensitivity to different classes of anxiolytics and antidepressants. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 547, n. 1/3, p. 106-115, Oct. 2006.

NIEMAN, D. C. Moderate exercise improves immunity and decreases illness rates. **American Journal of Lifestyle Medicine**, Naples, v. 5, n. 4, p. 338-345, Apr. 2011.

NISHIMURA, F. et al. Periodontal disease and diabetes *mellitus*: the role of tumor necrosis factor-alpha in a 2-way relationship. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 74, n. 1, p. 97-102, Jan. 2003.

NORRIS, S. L. et al. Conflicts of Interest among authors of clinical practice guidelines for glycemic control in type 2 diabetes *mellitus*. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 10, p. e75284, Oct. 2013.

O'NEILL, H. M. AMPK and exercise: glucose uptake and insulin sensitivity. **Diabetes & Metabolism Journal**, Seoul, v. 37, n. 1, p. 1-21, Feb. 2013

PANDEY, D. K. et al. Depression-like and anxiety-like behavioural aftermaths of impact accelerated traumatic brain injury in rats: a model of comorbid depression and anxiety? **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 205, n. 2, p. 436-442, Dec. 2009.

PASSOJA, A. et al. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- $\alpha$  in chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 37, n. 10, p. 881-887, Oct. 2010.

PRESHAW, P. M. et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. **Diabetologia**, New York, v. 55, n. 1, p. 21-31, Jan. 2012.

RAJHANS, N. S. et al. A clinical study of the relationship between diabetes *mellitus* and periodontal disease. **Journal of Indian Society of Periodontology**, Mumbai, v. 15, n. 4, p. 388-392, Oct. 2011.

RICHARDSON, S. J. et al. Expression of the enteroviral capsid protein VP1 in the islet cells of patients with type 1 diabetes is associated with induction of protein kinase R and downregulation of Mcl-1. **Diabetologia**, New York, v. 56, n. 1, p. 185-193, Jan. 2013.

RICHARDSON, S. J.; HORWITZ, M. S. Is type 1 diabetes “going viral”? **Diabetes**, New York, v. 63, n. 7, p. 2203-2205, July 2014.

ROBERTS-THOMSON, K. F. et al. Prevalence, extent and severity of severe periodontal destruction in an urban Aboriginal and Torres Strait Islander population. **Australian Dental Journal**, Sydney, v. 59, n. 1, p. 43-47, Mar. 2014.

ROJAS, J. et al. Successful management of insulin allergy and autoimmune polyendocrine syndrome type 4 with desensitization therapy and glucocorticoid treatment: a case report and review of the literature. **Case Reports in Immunology**, Cairo, v. 2014, n. 394754, p. 1-9, Jan. 2014.

ROSANIA, A. E. et al. Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 80, n. 2, p. 260-266, Feb. 2009.

ROTELLA, C. M.; MONAMI, M.; MANNUCCI, E. Metformin beyond diabetes: new life for an old drug. **Current Diabetes Reviews**, San Francisco, v. 2, n. 3, p. 307-315, Aug. 2006.

SANCHEZ-DELGADO, G. et al. Role of exercise in the activation of brown adipose tissue. **Annals of Nutrition & Metabolism**, New York, v. 67, n. 1, p. 21-32, July 2015.

SANDERS, A. E. et al. Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 36, n. 5, p. 388-395, May 2009.

SAUR, L. et al. Physical exercise increases GFAP expression and induces morphological changes in hippocampal astrocytes. **Brain Structure and Function**, Berlin, v. 219, n. 1, p. 293-302, Jan. 2013.

SEINO, Y. et al. Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes *mellitus*. **Journal of Diabetes Investigation**, Tokyo, v. 1, n. 5, p. 212-228, Oct. 2010.

SEURING, T.; ARCHANGELIDI, O.; SUHRCKE, M. The economic costs of type 2 diabetes: a global systematic review. **Pharmaco Economics**, Auckland, v. 33, n. 8, p. 811-831, Aug. 2015.

SHEPHERD, P. R.; KAHN, B. B. Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes *mellitus*. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 341, n. 4, p. 248-257, July 1999.

SILVA, V. de O. et al.  $\beta$ -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease. **PloS One**, San Francisco, v. 10, n. 8, p. e0134742, Jan. 2015.

SPALJ, S. et al. Periodontal conditions and oral hygiene in rural population of post-war Vukovar region, Croatia in correlation to stress. **European Journal of Medical Research**, Munich, v. 13, n. 3, p. 100-106, Mar. 2008.

STANFORD, K. I.; MIDDELBEEK, R. J. W.; GOODYEAR, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: being and metabolic adaptations. **Diabetes**, New York, v. 64, n. 7, p. 2361-2368, July 2015.

TAUBMAN, M. A. et al. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 76, n. 11, p. 2033-2041, Nov. 2005. Supplement.

TAYLOR, G. W. et al. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes *mellitus*. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 67, n. 10, p. 1085-1093, Oct. 1996. Supplement.

TEIXEIRA-LEMOS, E. et al. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. **Cardiovascular Diabetology**, London, v. 10, n. 1, p. 1-15, Jan. 2011.

TELES, R. P. et al. Relationships between subgingival microbiota and GCF biomarkers in generalized aggressive periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 37, n. 4, p. 313-323, May 2010.

TELFORD, C.; COULTER, I.; MURRAY, L. Exploring socioeconomic disparities in self-reported oral health among adolescents in california. **Journal of the American Dental Association (1939)**, Chicago, v. 142, n. 1, p. 70-78, Jan. 2011.

THOMAS, A. et al. Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. **Psychopharmacology**, Berlin, v. 204, n. 2, p. 361-373, June 2009.

THOMPSON, D. et al. Physical activity and exercise in the regulation of human adipose tissue physiology. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 92, n. 1, p. 157-191, Jan. 2012.

THROWER, Y.; PINNEY, R. J.; WILSON, M. Susceptibilities of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilms to oral antiseptics. **Journal of Medical Microbiology**, London, v. 46, n. 5, p. 425-429, May 1997.

TROCHIMIAK, T.; HÜBNER-WOŹNIAK, E. Effect of exercise on the level of immunoglobulin a in saliva. **Biology of Sport**, Warsaw, v. 29, n. 4, p. 255-261, Dec. 2012.

TURI, B. C. et al. The impact of physical activity on mitigation of health care costs related to diabetes *mellitus*: findings from developed and developing settings Diabetes *mellitus* and physical exercise. **Current Diabetes Reviews**, San Francisco, 2016. In press.

VETTORE, M. et al. The influence of stress and anxiety on the response of non-surgical periodontal treatment. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n. 12, p. 1226-1235, Dec. 2005.

VIÑALS, F. et al. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate regulates GLUT4 and GLUT1 glucose transporter expression and stimulates transcriptional activity of the GLUT1 promoter in muscle cells. **Endocrinology**, Baltimore, v. 138, n. 6, p. 2521-2529, June 1997.

WANG, A. et al. Application of electrospun Poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate]-Ecoflex mats in periodontal regeneration: a primary study. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOMEDICAL ENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY, 2012, Macau. **Proceedings...** Macau: IEEE, 2012. Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/lpdocs/epic03/wrapper.htm?arnumber=6245285>>. Acesso em: 9 jan. 2016.

WARREN, K. R. et al. Role of chronic stress and depression in periodontal diseases. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 64, n. 1, p. 127-138, Feb. 2014.

WEYER, C. et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Stanford, v. 86, n. 5, p. 1930-1935, May 2001.

WRIGHT, D. C. et al. Ca<sup>2+</sup> and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. **Diabetes**, New York, v. 53, n. 2, p. 330-335, Jan. 2004.

ZHOU, Q.; LEEMAN, S. E.; AMAR, S. Signaling mechanisms in the restoration of impaired immune function due to diet-induced obesity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 108, n. 7, p. 2867-2872, Feb. 2011.

ZHOU, X. et al. Interrelationship between diabetes and periodontitis: role of hyperlipidemia. **Archives of Oral Biology**, Elmsford, v. 60, n. 4, p. 667-674, Apr. 2015.

ZORZANO, A.; PALACÍN, M.; GUMÀ, A. Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, Philadelphia, v. 183, n. 1, p. 43-58, Jan. 2005.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1 - EFEITOS DA PRÁTICA DE EXERCÍCIOS FÍSICOS  
SOBRE A PROGRESSÃO DA DOENÇA PERIODONTAL: UMA  
REVISÃO SISTEMÁTICA**

**Artigo redigido de acordo com as normas para submissão no periódico  
*Journal of Periodontology.***

## **Efeitos da Prática de Exercícios Físicos sobre a Progressão da Doença Periodontal: Uma Revisão Sistemática**

### **Resumo**

Comportamentos saudáveis como controle do peso, qualidade da dieta e prática de exercícios físicos estão relacionados à melhor saúde periodontal e à menor propensão ao desenvolvimento de formas mais graves de Doença Periodontal (DP). Desta forma, objetivou-se com a presente revisão sistemática, avaliar os resultados presentes na literatura acerca dos efeitos de exercícios físicos sobre a prevalência e progressão desta doença. Para tal, em janeiro de 2016 realizou-se uma busca na base de dados PUBMED utilizando combinações das palavras-chave “*exercise*”, “*periodontal disease*”, “*physical activity*” e “*periodontitis*”. Como critérios de inclusão, foram selecionados apenas artigos originais, publicados na língua inglesa, que fizeram uma comparação direta do nível de atividade física ou prática habitual de exercício com o *status* periodontal. Foram retornados na busca 158 artigos, sendo 134 destes excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão. Desta forma, foram incluídos ao todo 24 estudos, sendo que 12 deles (50%) observaram melhoria da DP frente ao exercício, enquanto 10 (42%) não observaram diferenças e dois (8%) relataram piora. A partir destes resultados, pode-se considerar que a prática de atividade física apresenta potenciais benefícios sobre a progressão da DP. Entretanto, mais estudos envolvendo a prescrição de exercício para grupos de risco são necessários.

**Palavras-chave:** Exercício físico. Periodontite. Saúde Periodontal.

## Introdução

A Doença Periodontal (DP) é uma inflamação crônica que afeta os tecidos adjacentes ao dente, promovendo perda de inserção e reabsorção do osso alveolar.<sup>1</sup> Esta inflamação ocorre como uma resposta do hospedeiro frente ao acúmulo de biofilme subgengival, sendo, na maioria das vezes, assintomática em suas fases iniciais.<sup>2</sup> As consequências diretas da DP envolvem sangramento gengival, mobilidade e perda dentária, infecções orais recorrentes, comprometimento estético e piora na qualidade de vida.<sup>2</sup> Adicionalmente, esta doença está associada a condições como cardiopatias, doença renal crônica, doenças respiratórias, artrite reumatoide, síndrome metabólica e câncer.<sup>3</sup>

Estima-se que a prevalência de DP na população mundial seja superior a 50%, sendo que 10% destes indivíduos possuem a forma mais grave da doença.<sup>4</sup> Os fatores de risco para o desenvolvimento e progressão da DP envolvem componentes genéticos, estresse, obesidade e diabetes, além do estilo de vida como tabagismo e alcoolismo.<sup>5</sup>

Por outro lado, alguns comportamentos como higiene oral correta e acompanhamento odontológico periódico podem evitar a progressão da doença.<sup>6</sup> Adicionalmente, comportamentos alternativos como uma dieta de qualidade, manutenção de peso ideal e atividade física adequada também podem melhorar a saúde periodontal.<sup>7</sup> Nesse sentido, diversos estudos têm observado a relação entre a prática de exercícios e o *status* periodontal.<sup>8-10</sup> Entretanto, os resultados são contraditórios, mostrando que a prática de atividade física melhora ou impede a progressão da DP,<sup>8,11,12</sup> enquanto outros não observam diferenças<sup>13-15</sup> ou até mesmo relatam piora no quadro do paciente<sup>16,17</sup>.

Desta forma, torna-se necessário a realização de estudos capazes de elucidar a relação entre a DP e a atividade física, de forma a definir se a prática de exercícios pode ou não interferir na progressão desta doença. Neste sentido, a

realização de uma revisão sistemática pode trazer luz a esta incógnita, já que este tipo de pesquisa é um elemento chave para questões relacionadas à saúde que ainda permanecem misteriosas ou contraditórias.<sup>18</sup> Assim, objetivou-se com a presente revisão sistemática verificar a relação entre a prática de atividade física e o *status* periodontal, e quais os fatores e/ou mecanismos estão envolvidos.

## **Materiais e Métodos**

### *Estratégia de pesquisa*

Em janeiro de 2016 foi realizada uma consulta na base de dados Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) utilizando as seguintes palavras-chave: “*exercise*” and “*periodontal disease*”; “*physical activity*” and “*periodontal disease*”; “*exercise*” and “*periodontitis*”; “*physical activity*” and “*periodontitis*”.

### *Seleção dos estudos*

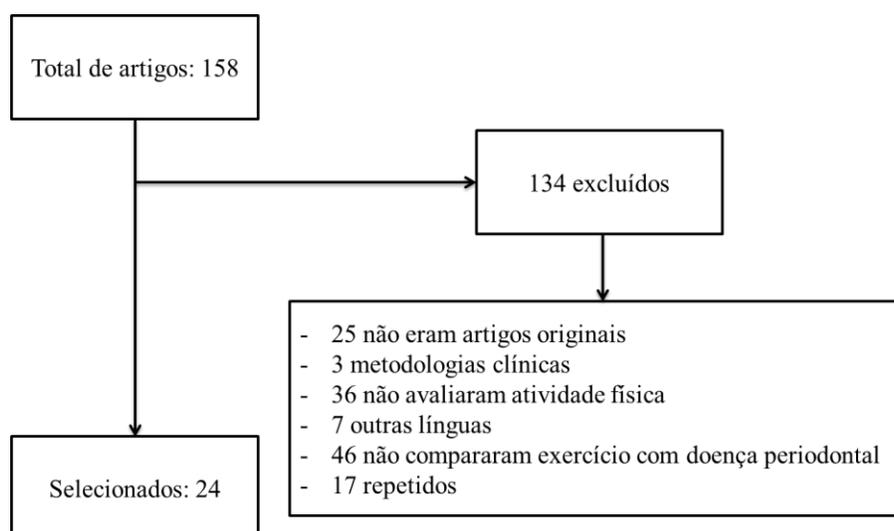
Foram selecionados apenas estudos originais publicados na língua inglesa que realizaram uma comparação direta entre parâmetros da doença periodontal e o nível de atividade física ou treinamento físico, dissociada de outras variáveis. Desta forma, estudos que relacionaram apenas o agrupamento de variáveis (p.e. dieta incluindo o exercício ou hábitos de vida incluindo o exercício) com o *status* periodontal não foram selecionados. Tal restrição foi feita devido ao fato de que com este agrupamento não seria possível observar os efeitos do exercício sobre a DP isoladamente. Além disso, na análise deste agrupamento de variáveis, os resultados relativos ao *status* periodontal poderiam ter ocorrido, em maior parte, por outros fatores ou até mesmo a interação destes

com o exercício. Desta forma, tal fato não permitiria inferências sobre os efeitos apenas da atividade física sobre a DP.

Não houve restrições quanto ao período experimental, gênero, espécie, tamanho da amostra e/ou data em que o artigo foi publicado.

## Resultados

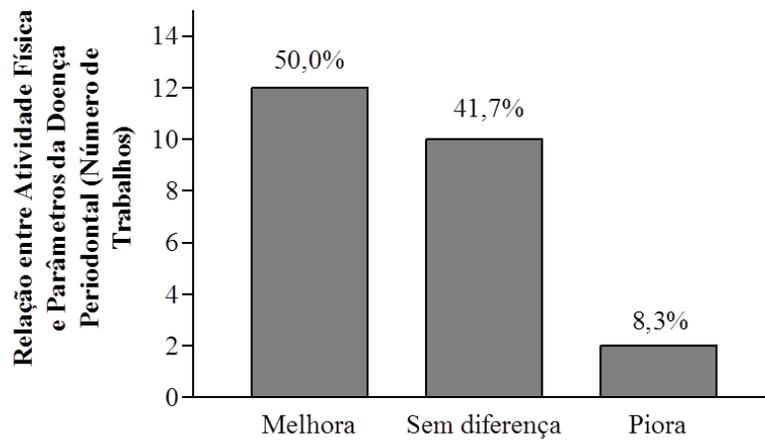
Foram retornados na busca 158 artigos, sendo que 24 destes atenderam aos critérios da presente revisão (Figura 1).



**Figura 1:** Fluxograma do processo de busca de artigos utilizando combinações das palavras-chave “*exercise*”, “*periodontal disease*”, “*physical activity*” e “*periodontitis*”.

Dos 24 trabalhos selecionados, 12 relataram melhora ou atenuação da DP em indivíduos fisicamente ativos ou frente à prática de exercício, enquanto 10 estudos não observaram diferenças significativas e apenas dois observaram piora (Figura1; Tabela 1). Apenas um dos estudos foi realizado com modelo

animal<sup>19</sup> e em somente um dos artigos com humanos houve intervenção com atividade física em indivíduos previamente sedentários<sup>20</sup>, enquanto os demais avaliaram o nível de atividade física por meio de questionários, que nem sempre eram específicos com relação aos critérios para caracterizar este nível.



**Figura 2:** Efeitos da atividade física sobre a progressão da doença periodontal a partir do resultado de 24 estudos.

**Tabela 1:** Principais características dos estudos selecionados

Autor e ano de publicação	Tipo de estudo/Grupo controle	N/Idade dos participantes	Características da amostra.	Avaliação da Doença Periodontal	Avaliação do Nível de Atividade Física ou Protocolo de exercício	Efeitos do exercício sobre a Doença Periodontal
AHN et al., (2015) <sup>21</sup>	Cross-sectional./Não.	14625 (8378 mulheres e 6247 homens)./Acima de 19 anos.	Indivíduos que participaram do <i>Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey</i> (KNHANES IV)	CPITN e PBP em 10 dentes. Considerou-se com DP valores de CPITN entre 3-4.	Questionário. Considerou-se fisicamente ativos, indivíduos que faziam AF extenuante uma ou mais vezes por semana.	Diminuiu.
AL-ZAHRANI, (2006) <sup>11</sup>	Cross-sectional./Não.	12764 (6549 mulheres e 6215 homens)./ Acima de 18 anos.	Indivíduos norte-americanos que participaram do <i>Third National Health and Nutrition Examination Survey</i> (NHANES III)	Cálculo do NI através dos resultados de PS e RC. Considerou-se com DP, PS $\geq$ 4 mm e NI $\geq$ 3 mm.	Os indivíduos foram classificados como: “sedentários”, “insuficiente” e “recomendado”. Os critérios de classificação não foram apresentados.	Diminuiu.
AL-ZAHRANI et al., (2005) <sup>8</sup>	Cross-sectional./Não.	2521 (1276 mulheres e 1245 homens)./ Acima de 18 anos.	Norte-americanos participantes do <i>Third National Health and Nutrition Examination Survey</i> (NHANES III) com NAF respondido no questionário semelhante ao realizado nos 10 anos anteriores.	Cálculo do NI com base nos resultados de PS e RC. Considerou-se com DP, PS $\geq$ 4 mm e NI $\geq$ 3 mm.	Questionário adaptado do 1985 <i>National Interview Survey</i> . Classificou-se como: “inativo”, “parcialmente ativo” ou “ativo”.	Diminuiu.

BAWADI et al., (2011) <sup>12</sup>	Estudo clínico randomizado./NI.	340 (172 mulheres e 168 homens)./Entre 18 e 77 anos.	Pacientes saudáveis que não receberam tratamento odontológico, nos seis meses anteriores, atendidos na clínica do Centro Médico da Universidade de Ciência e Tecnologia da Jordânia.	Avaliação clínica da PBP e nível de PIC. Considerou-se com DP, PS $\geq$ 4 mm e NI $\geq$ 3 mm.	Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ). Classificação do NAF em “baixo”, “moderado” e “alto”.	Diminuiu.
CUETO et al., (2005) <sup>13</sup>	Estudo caso controle./Sim.	149 (60 mulheres e 89 homens)./Entre 40 e 75 anos.	Pacientes com histórico confirmado de infarto agudo do miocárdio (grupo caso) e pacientes de trauma (grupo controle).	Perda avaliada pela PBP e retração gengival em seis dentes. A classificação de nível de DP foi definida de acordo com a % de perda de inserção acima de 3 mm (0% - ausente; 0-32% média; 33-66% moderada e acima de 67% grave).	Questionário <i>European Society for Market Research</i> . Classificação em exercício regular “sim” ou “não”. Não foram apresentados os critérios.	Não houve diferença significativa.
DEMMER et al., (2010) <sup>14</sup>	Estudo de coorte de base populacional./Não.	2793 (1576 mulheres e 1217 homens)/Entre 20 e 81 anos.	Indivíduos não diabéticos (no <i>baseline</i> ) das cidades alemãs de Greifswald, Stralsund, Anklam e vilarejos adjacentes.	PS e PIC, avaliada em todos os dentes de um dos lados da boca, escolhido aleatoriamente. PIC $\geq$ 5 mm classificadas nas seguintes categorias de perda em relação ao <i>baseline</i> : AL1: melhorou a perda. AL2: sem alterações. AL3: aumento de 1 a 8% de perda. AL4: perda superior a 9%.	MET obtido por atividade física reportada no tempo de lazer (< 1, 1-2 e > 2 horas/semana).	Não houve diferença significativa.

GEISMAR et al., (2006) <sup>22</sup>	Estudo caso controle./Sim.	250 (89 mulheres e 161 homens)./Grupo caso: 65 anos. Grupo controle: 62,6 anos.	Indivíduos com doença coronariana confirmada (grupo caso) e indivíduos com a mesma faixa etária sem doença coronariana e sem inflamações crônicas nos seis meses anteriores à coleta.	Radiografia. Perda óssea alveolar medida pela distância entre a junção cimento-esmalte e a parte mais apical da crista óssea alveolar. Classificação da perda em: “1” ≤ 2 mm; “2” >2 e ≤ 4 mm; “3” > 4 mm.	Questionário. Não houve classificação específica. Apresentou-se apenas como ≤ a duas horas de atividade física semanal.	Não houve diferença significativa.
HA et al., (2014) <sup>23</sup>	Prospectivo de coorte./NI.	283 mulheres./Entre 25 e 40 anos.	Gestantes entre 21 e 24 semanas de sua primeira gestação, nunca fumantes e com, pelo menos, 20 dentes.	PIC em seis regiões de todos os dentes exceto terceiros molares e sítios distais do segundo molar. Classificação de presença de DP com perda de inserção acima de 4 mm em dois ou mais sítios de diferentes dentes.	Entrevista sobre prática de exercícios antes e durante a gravidez. Classificação da atividade física semanal em: “não”; “1-2 vezes” e “≥ 3 vezes”.	Não houve diferença significativa.
HAN et al., (2010) <sup>24</sup>	Cross-sectional./NI.	1046 (589 mulheres e 457 homens)./Acima de 18 anos.	Indivíduos com mais de 20 dentes naturais, residentes das cidades coreanas de Shiwha e Banwol.	CPI de seis regiões por dente em um total de 10 dentes. Classificação do estado de saúde periodontal em: CPI 0 – normal; CPI 1 - sangramento gengival; CPI 2 - cálculo; CPI 3 – PBP entre 3,5 e 5,5 mm; CPI 4 – PBP acima de 5,5 mm. CPI 0-2 foi classificada como sem DP e CPI 3-4 como com DP.	NC. Classificação da atividade física semanal em: “não”, “caminhada” e “exercício”.	Diminuiu.

HAYASHIDA et al., (2009) <sup>9</sup>	Base comunitária./ Não	135 (78 mulheres e 57 homens)./ Acima de 40 anos.	Indivíduos não diabéticos residentes de quatro ilhas localizadas a sudoeste de Nagasaki, Japão.	CPI dos dentes mais representativos. Classificação da DP em: CPI ≤ 2 – normal/gengivite; CPI = 3 – moderada; CPI = 4 – grave.	Questionário. Classificação em hábito de se exercitar em “sim” ou “não”.	Não houve diferença significativa.
ISLAM et al., (2015) <sup>17</sup>	Cross-sectional./Não.	19122 (10874 mulheres e 8248 homens)./Acima de 20 anos.	Indivíduos que participaram do 3º, 4º e 5º <i>Korea National Health and Nutrition Examination Survey</i> (KNHANES)	CPI em seis áreas de oito molares e incisivos centrais inferiores. Classificação de CPI nos escores: 0 = normal; 1 = sangramento gengival; 2 = cálculo; 3 = PBP entre 3,5 e 5,5 mm; 4 = PBP superior a 5,5 mm.	Questionário pré-estruturado. Classificação entre “sim” e “não” para exercício regular (moderado acima de 30 min/sessão mais de cinco vezes/semana ou extenuante durante 20 minutos ou caminhada por mais de 30 min/sessão, mais de cinco dias/semana).	Aumentou.
IWASAKI et al., (2016) <sup>15</sup>	Longitudinal./Não.	85 (55 mulheres e 30 homens)./ Acima de 75 anos.	Indivíduos, com dois ou mais dentes, residentes de uma casa de repouso da cidade de Tosa, Japão.	PIC e PS em seis áreas de cada dente excluindo os terceiros molares. DP grave foi considerada quando a PIC foi ≥ 6 mm ou PS ≥ 5 mm.	Questionário. Classificou-se como exercício regular atividades físicas realizadas durante um período ≥ 30 min/sessão por duas ou mais vezes/semana.	Não houve diferença significativa.

JÖNSSON et al., (2014) <sup>10</sup>	Caso controle cross-sectional./Sim.	112 (51 mulheres e 61 homens)./ Entre 26 e 56 anos.	Indivíduos não fumantes, não diabéticos, não gestantes com mais de 20 dentes e sem uso de antibióticos, aspirina ou anticoagulantes. Grupo caso - com DP. Grupo controle - sem DP.	Presença de sangramento na sondagem em pelo menos 30% das áreas avaliadas com PS $\geq$ 5 mm concomitante à PIC $\geq$ 3 mm em dois ou mais dentes em cada quadrante.	Questionário. Tempo de AF semanal convertidos em MET. Classificação em níveis de atividade física em: moderada = 4 MET's e vigorosa = 8 MET's.	Não houve diferença significativa.
MENDOZA-NÚÑEZ et al., (2014) <sup>20</sup>	Quase experimental./ Sim.	61 (NI)./ Entre 60 e 74 anos.	Indivíduos com DP sedentários no <i>baseline</i> que não utilizavam suplementos alimentares ou anti-inflamatórios. Grupo controle permaneceu sedentário e grupo experimental realizou exercício.	Índice de DP avaliado por meio da PBP, nos sextantes da dentição, incluindo os terceiros molares apenas na ausência dos segundos. Foram avaliados, também, os níveis salivares de Superóxido dismutase (SOD), <i>status</i> antioxidante total (TAS), TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10.	O grupo experimental realizou sessões de 60 minutos de Tai Chi (considerado pelos autores como exercício em intensidade moderada), cinco vezes/semana durante seis meses.	Diminuiu.
MERCHANT et al., (2003) <sup>25</sup>	Estudo prospectivo./ Não.	39461 homens./ Entre 40 e 75 anos.	Profissionais da área da saúde, sem histórico de DP, infarto ou mudança no nível de atividade física em virtude de doenças até o <i>baseline</i> .	Perda óssea radiográfica.	Questionário. O tempo de AF foi convertido em MET.	Diminuiu.

OLIVEIRA et al., (2015) <sup>26</sup>	Cross-sectional./Não.	111 homens./ Entre 20 e 56 anos.	Policiais militares, fisicamente ativos, não fumantes e com 20 ou mais dentes.	PS, PIC e SS, em três áreas por dente, em todos os dentes permanentes, com exceção dos terceiros molares. Classificou-se com DP moderada: PIC $\geq$ 4 mm, PS $\geq$ 5 mm e SS $\geq$ 15% em duas regiões interproximais.	Teste de capacidade física. Escore de 0 a 300.	Diminui.
SAMNIENG et al., (2013) <sup>27</sup>	Cross-sectional./Não.	612 (454 mulheres e 158 homens)./ Acima de 60 anos.	Idosos, escolhidos aleatoriamente, residentes na província de Phitsanulok, Tailândia.	PS e PIC. Classificou-se com presença de DP quando PS $\geq$ 3 mm e PIC $\geq$ 4 mm.	Questionário. Classificação da atividade física em “regularmente” e “não”. Não foram relatados parâmetros de classificação.	Diminuiu.
SANDERS et al., (2009) <sup>28</sup>	Caso-controle./ Sim.	751 (441 mulheres e 310 homens)./ Acima de 18 anos.	Indivíduos dentados que participaram do <i>National Survey of Adult Oral Health</i> , desenvolvido na Austrália entre 2004 e 2006. Grupo caso composto por indivíduos com DP classificada entre moderada e severa.	PBP, NIC e RC em três áreas. Níveis de IL1- $\beta$ e proteína-C reativa no fluido gengival crevicular. Classificação como DP quando NIC $\geq$ 4 mm e PBP $\geq$ 5 mm.	<i>Active Australia Survey</i> . Classificação em “Fisicamente ativo” ( $\geq$ 150 min/semana ou $\geq$ 5 sessões/semana) ou “Insuficientemente ativos” (valores inferiores).	Não houve diferença significativa.

SHIMAZAKI et al., (2010) <sup>29</sup>	Cross-sectional./Não.	1160 (783 mulheres e 377 homens)./ Entre 20 e 77 anos.	Indivíduos normotensos com 20 ou mais dentes.	CPI 0 = saudável; 1 = sangramento; 2 = cálculo com ou sem sangramento; 3 = PS entre 4 e 5 mm; 4 = PS ≥ 6 mm.	Avaliação do VO <sub>2</sub> máx através de teste em bicicleta ergométrica.	Diminuiu.
SPALJ et al., (2008) <sup>16</sup>	Cross-sectional./Não.	282 (144 mulheres e 138 homens)./ Entre 15 e 70 anos.	Dez por cento da população dos arredores de Vukovar, Croácia, cinco anos após a guerra no país.	CPI, perda de inserção, envolvimento de furca, mobilidade dentária e RC acima de 3,5 mm foram considerados como DP.	Questionário. Os autores relacionaram o item “tipo de trabalho” do questionário como atividade física, classificada como: “leve”, “moderado” e “pesado”.	Aumentou.
YEN et al., (2014) <sup>30</sup>	Cross-sectional./Não.	6214 (4002 mulheres e 2212 homens)./ Entre 40 e 44 anos.	Participantes de um Programa do governo de Keelung, Taiwan, em idade de diagnóstico de neoplasias colorretais.	CPI de toda a boca em seis sextantes. Os resultados foram representados pelo valor mais alto de um dos sextantes. Classificou-se como: CPI 0 = saudável; CPI1 = sangramento na sondagem; CPI2 = cálculo; CPI3 = PBP de 4-5 mm; CPI4 = PBP ≥ 6 mm.	Questionário. Classificou-se o hábito de se exercitar como: “Nenhum”; “≤ 60 min/semana” e “> 60 min/semana”.	Diminuiu.
YOSHIDA et al., (1997) <sup>31</sup>	Cross-sectional./Não.	1821 (158 mulheres e 1663 homens)./ Entre 20 e 69 anos.	Trabalhadores de uma fábrica de produtos químicos em Osaka, Japão.	CPITN. Não foram apresentadas as classificações.	Questionário. Classificação em: “nunca”, “às vezes”, “uma ou duas vezes por semana” e “quase diariamente”	Não houve diferença significativa.
YOSHIDA et al., (2001) <sup>32</sup>	Cross-sectional./Não.	Aproximadamente 2000 homens./ Entre 20 e 69 anos.	Trabalhadores de uma fábrica de petróleo em Osaka, Japão.	CPI. Não foram apresentadas as classificações de forma clara.	Questionário. Classificação em: “nunca”, “às vezes”, “uma ou duas vezes por semana” e “quase diariamente”	Não houve diferença significativa.

ZHOU; LEEMAN; AMAR, (2011) <sup>19</sup>	Experimental./Sim	NI./NI.	Camundongos C57BL/6J obesos (com e sem dieta hiperlipídica) e não obesos (dieta comercial) e induzidos ou não à DP com ligadura embebida com <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	Perda óssea alveolar avaliada por morfometria e títulos de bactérias das placas subgengivais.	Quatro semanas de exercício em esteira, cinco vezes/semana, uma hora/sessão na intensidade de 12 m/min.	Diminuiu.
---	-------------------	---------	--	---	---	-----------

Abreviações: CPITN= Índice de necessidade de tratamento periodontal comunitário; PBP= Profundidade de Bolsa Periodontal; DP= Doença Periodontal; AF= Atividade Física; NI= Nível de Inserção; PS= Profundidade de Sonda; RC= Recessão Clínica; PIC= Perda de Inserção Clínica; NAF= Nível de Atividade Física; MET= Termo Equivalente Metabólico; CPI = Índice Periodontal Comunitário; SS= Sangramento de Sondagem.

## Discussão

Revisões sistemáticas fornecem evidências de alto nível para dar suporte a questões na área da saúde e são ferramentas fundamentais para tomada de decisão por profissionais.<sup>33-35</sup> Na presente revisão, investigamos a relação da atividade física com a prevalência e progressão da DP. De forma a evitar a exclusão de qualquer artigo, uma busca cuidadosa foi realizada. Entretanto, devido a possíveis variações nos títulos, indexação e palavras-chave, existe a possibilidade de algum artigo não ter aparecido nos resultados.

Metade dos estudos avaliados demonstrou que indivíduos fisicamente ativos apresentam menor predisposição em desenvolver formas mais graves da DP. O exercício regular pode melhorar a resposta imunológica do hospedeiro, deixando o organismo menos susceptível a infecções,<sup>36</sup> justificando os possíveis efeitos benéficos da atividade física sobre a periodontite. Adicionalmente, foi relatado que o exercício habitual em intensidade moderada aumenta a concentração e secreção de Imunoglobulina A Secretora (SIgA) salivar.<sup>37,38</sup> Esta IgA protege a superfície da mucosa oral, prevenindo a aderência de bactérias e dificultando o aparecimento de infecções orais.<sup>39</sup> Desta forma, a prática de exercício pode atuar com ação preventiva, podendo ser prescrita para grupos com predisposição ao desenvolvimento de DP.<sup>40</sup>

Mesmo que em 41% dos estudos não tenha ocorrido alterações significativas, na maioria (60% dos que não houve diferença), houve uma tendência de melhor *status* periodontal em indivíduos fisicamente ativos. Tal fato pode ser observado nos estudos de Ha *et al.*<sup>23</sup>, Hayashida *et al.*<sup>9</sup>, Iwasaki *et al.*<sup>15</sup>, Jönsson *et al.*<sup>10</sup> e Sanders *et al.*<sup>28</sup>

A maioria dos estudos avaliou o nível de atividade física por meio de questionários, sendo que nem sempre estes instrumentos utilizavam critérios validados ou específicos para identificar o nível de atividade física dos

indivíduos. Tal comportamento pode ser justificado pelo fato de que, nestes estudos que utilizaram questionários, o objetivo principal não era avaliar os efeitos do exercício sobre a DP. Considerando este aspecto, apenas no estudo de Bawadi<sup>12</sup> foi utilizado um questionário (IPAQ), internacionalmente validado, para este fim.

Entre os vinte e quatro estudos selecionados, apenas dois (um em modelo animal<sup>22</sup> e outro em humanos<sup>23</sup>) tiveram este objetivo. No estudo de Mendonza-Núñez *et al.*<sup>23</sup> foi observado que a prática de sessenta minutos de Tai Chi, cinco vezes por semana, durante seis meses, aumentou o status antioxidante total (TAS) e os níveis de superóxido dismutase (SOD), diminuiu os de IL1- $\beta$  e IL-6 na saliva, além de ter reduzido o Índice de DP em idosos.<sup>23</sup> Os autores relacionaram estes resultados ao estímulo que o exercício em intensidade moderada promove sobre o equilíbrio redox do organismo, favorecendo condições mais alcalinas para as células e, com isso, aumentando a capacidade antioxidante.<sup>23</sup> O aumento de antioxidantes endógenos, promovido pelo exercício físico crônico, auxilia na melhoria do sistema imunológico, sendo observado que o exercício voluntário promoveu aumento da resistência a danos induzidos por espécies reativas de oxigênio em linfócitos de ratos.<sup>44</sup> Adicionalmente, a intensidade do exercício pode ser um fator determinante na progressão de inflamações crônicas como a DP. Assim, do ponto de vista imunológico, é observado um mecanismo dose resposta, em formato de “J”, onde exercícios em intensidades entre leve e moderada melhoram a resistência a infecções enquanto altas intensidades deixam o organismo mais susceptível a patógenos.<sup>45</sup>

Apenas um dos estudos avaliados investigou os efeitos do exercício sobre a DP em modelo animal.<sup>19</sup> Neste estudo, camundongos foram induzidos à DP com ligadura embebida com *Porphyromonas gingivalis* e submetidos a quatro semanas de exercício em esteira. Foi observado ao final que a perda óssea

alveolar foi menor nos animais treinados e os títulos de bactérias diminuíram nos animais obesos (consumindo dieta comercial) submetidos ao exercício.<sup>19</sup>

Mesmo que dois dos estudos<sup>16,17</sup> tenham observado piora na DP com o aumento do nível de atividade física, deve-se considerar que fatores culturais como local onde a pesquisa foi conduzida e tipo de população avaliada, além de características da DP, diferenças nos métodos de avaliação da DP e experiência dos avaliadores, podem aumentar a variabilidade dos resultados deste tipo de pesquisa.<sup>45</sup>

### **Conclusões**

A partir dos estudos avaliados, conclui-se que o exercício físico pode melhorar a saúde periodontal. Entretanto, os mecanismos envolvidos ainda não são claros. Desta forma, considerando os potenciais benefícios da atividade física sobre a saúde periodontal, existe a necessidade de mais estudos investigando os efeitos de diferentes tipos e intensidades de exercício sobre grupos propensos a DP. Além disso, observou-se uma escassez de estudos experimentais onde se investiga os efeitos da prática de exercício sobre a progressão da desta doença.

### **Referências**

1. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000 [Internet]. 2014 Feb [cited 2016 Jan 5];64(1):57–80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4500791&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
2. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br Dent J* [Internet]. 2014 Oct 24 [cited 2016 Jan

- 6];217(8):433–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25342350>
3. Winning L, Linden GJ. Periodontitis and systemic disease. *BDJ Team* [Internet]. Nature Publishing Group; 2015 Nov 27 [cited 2016 Jan 24];2(10):15163. Available from:  
<http://www.nature.com.zhongjivip.net/articles/bdjteam2015163>
  4. Borgnakke WS, Ylöstalo P V, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *J Periodontol* [Internet]. 2013 Apr [cited 2016 Jan 5];84(4 Suppl):S135–52. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23631574>
  5. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 2013 Jun [cited 2016 Jan 7];62(1):59–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23574464>
  6. Jiang H, Xiong X, Su Y, Zhang Y, Wu H, Jiang Z, et al. A randomized controlled trial of pre-conception treatment for periodontal disease to improve periodontal status during pregnancy and birth outcomes. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. BioMed Central; 2013 Jan 9 [cited 2016 Feb 3];13(228):1–7. Available from:  
<http://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2393-13-228>
  7. Al-Zahrani MS, Borawski EA, Bissada NF. Periodontitis and three health-enhancing behaviors: maintaining normal weight, engaging in recommended level of exercise, and consuming a high-quality diet. *J Periodontol* [Internet]. 2005 Aug [cited 2016 Feb 3];76(8):1362–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16101370>
  8. Al-Zahrani MS, Borawski EA, Bissada NF. Increased physical activity reduces prevalence of periodontitis. *J Dent* [Internet]. 2005 Oct [cited 2016 Jan 13];33(9):703–10. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16150525>
  9. Hayashida H, Kawasaki K, Yoshimura A, Kitamura M, Furugen R, Nakazato M, et al. Relationship between periodontal status and HbA1c in nondiabetics. *J Public Health Dent* [Internet]. 2009 Jan [cited 2016 Jan

- 26];69(3):204–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19486462>
10. Jönsson D, Spinell T, Vrettos A, Stoecklin-Wasmer C, Celenti R, Demmer RT, et al. Circulating endothelial progenitor cells in periodontitis. *J Periodontol* [Internet]. 2014 Dec [cited 2016 Jan 27];85(12):1739–47. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25101916>
  11. Al-Zahrani MS. Increased intake of dairy products is related to lower periodontitis prevalence. *J Periodontol* [Internet]. 2006 Feb [cited 2016 Jan 13];77(2):289–94. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16460256>
  12. Bawadi HA, Khader YS, Haroun TF, Al-Omari M, Tayyem RF. The association between periodontal disease, physical activity and healthy diet among adults in Jordan. *J Periodontal Res* [Internet]. 2011 Feb [cited 2015 Jan 21];46(1):74–81. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20860591>
  13. Cueto A, Mesa F, Bravo M, Ocaña-Riola R. Periodontitis as risk factor for acute myocardial infarction. A case control study of Spanish adults. *J Periodontal Res* [Internet]. 2005 Feb [cited 2016 Jan 13];40(1):36–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15613077>
  14. Demmer RT, Desvarieux M, Holtfreter B, Jacobs DR, Wallaschofski H, Nauck M, et al. Periodontal status and A1C change: longitudinal results from the study of health in Pomerania (SHIP). *Diabetes Care* [Internet]. 2010 May [cited 2016 Jan 14];33(5):1037–43. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2858171&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  15. Iwasaki M, Yoshihara A, Kimura Y, Sato M, Wada T, Sakamoto R, et al. Longitudinal relationship of severe periodontitis with cognitive decline in older Japanese. *J Periodontal Res* [Internet]. 2016 Jan 6 [cited 2016 Jan 27];n/a – n/a. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26740384>
  16. Spalj S, Plancak D, Bozic D, Kasaj A, Willershausen B, Jelusic D. Periodontal conditions and oral hygiene in rural population of post-war Vukovar region, Croatia in correlation to stress. *Eur J Med Res*

- [Internet]. 2008 Mar 31 [cited 2016 Jan 28];13(3):100–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18499555>
17. Islam SA, Seo M, Lee Y-S, Moon S-S. Association of periodontitis with insulin resistance,  $\beta$ -cell function, and impaired fasting glucose before onset of diabetes. *Endocr J* [Internet]. 2015 Jan [cited 2016 Jan 27];62(11):981–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26329671>
  18. Silva V de O, Foureaux R de C, Araujo TS, Peconick AP, Zangeronimo MG, Pereira LJ. Effect of probiotic administration on the immune response: a systematic review of experimental models in rats. *Brazilian Arch Biol Technol* [Internet]. Tecpar; 2012 Oct [cited 2016 May 30];55(5):685–94. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-89132012000500007&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132012000500007&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
  19. Francelino Andrade E, Vieira Lobato R, Vasques Araújo T, Gilberto Zangeronimo M, Vicente Sousa R, José Pereira L. EFFECT OF BETA-GLUCANS IN THE CONTROL OF BLOOD GLUCOSE LEVELS OF DIABETIC PATIENTS: A SYSTEMATIC REVIEW. *Nutr Hosp* [Internet]. 2014 Jan [cited 2015 Feb 20];31(n01):170–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25561108>
  20. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* [Internet]. 1996 Feb [cited 2015 Jan 7];17(1):1–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8721797>
  21. Zhou Q, Leeman SE, Amar S. Signaling mechanisms in the restoration of impaired immune function due to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2011 Feb 15 [cited 2016 Jan 28];108(7):2867–72. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3041076&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  22. Mendoza-Núñez VM, Hernández-Monjaraz B, Santiago-Osorio E, Betancourt-Rule JM, Ruiz-Ramos M. Tai Chi exercise increases SOD activity and total antioxidant status in saliva and is linked to an improvement of periodontal disease in the elderly. *Oxid Med Cell*

- Longev [Internet]. 2014 Jan [cited 2015 Oct 19];2014:603853. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3984794&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
23. Ahn Y-B, Shin M-S, Byun J-S, Kim H-D. The association of hypertension with periodontitis is highlighted in female adults; results from the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES IV). *J Clin Periodontol* [Internet]. 2015 Oct 13 [cited 2016 Jan 13]; Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26461204>
  24. Geismar K, Stoltze K, Sigurd B, Gyntelberg F, Holmstrup P. Periodontal disease and coronary heart disease. *J Periodontol* [Internet]. 2006 Sep [cited 2016 Jan 14];77(9):1547–54. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16945033>
  25. Ha J-E, Jun J-K, Ko H-J, Paik D-I, Bae K-H. Association between periodontitis and preeclampsia in never-smokers: a prospective study. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2014 Sep [cited 2016 Jan 25];41(9):869–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24930492>
  26. Han D-H, Lim S-Y, Sun B-C, Paek D, Kim H-D. The association of metabolic syndrome with periodontal disease is confounded by age and smoking in a Korean population: the Shiwha-Banwol Environmental Health Study. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2010 Jul [cited 2016 Jan 25];37(7):609–16. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20492075>
  27. Merchant AT, Pitiphat W, Rimm EB, Joshipura K. Increased physical activity decreases periodontitis risk in men. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 2003 Jan [cited 2015 Oct 19];18(9):891–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14561049>
  28. Oliveira JAP, Hoppe CB, Gomes MS, Grecca FS, Haas AN. Periodontal disease as a risk indicator for poor physical fitness: a cross-sectional observational study. *J Periodontol* [Internet]. 2015 Jan [cited 2016 Jan 27];86(1):44–52. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25119560>

29. Samnieng P, Ueno M, Zaitso T, Shinada K, Wright FAC, Kawaguchi Y. The relationship between seven health practices and oral health status in community-dwelling elderly Thai. *Gerodontology* [Internet]. 2013 Dec [cited 2016 Jan 27];30(4):254–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22630350>
30. Sanders AE, Slade GD, Fitzsimmons TR, Bartold PM. Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2009 May [cited 2014 Nov 5];36(5):388–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19419437>
31. Shimazaki Y, Egami Y, Matsubara T, Koike G, Akifusa S, Jingu S, et al. Relationship between obesity and physical fitness and periodontitis. *J Periodontol* [Internet]. 2010 Aug [cited 2016 Jan 27];81(8):1124–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20476888>
32. Yen AM-F, Lai H, Fann JC-Y, Chiu SY-H, Chen SL-S. Relationship between Community Periodontal Index and Fecal Hemoglobin Concentration, an Indicator for Colorectal Neoplasm. *J Dent Res* [Internet]. 2014 Jun 17 [cited 2016 Jan 28];93(8):760–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4293761&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
33. Yoshida Y, Ogawa Y, Imaki M, Nakamura T, Tanada S. Lifestyles and periodontal disease of Japanese factory workers. *Environ Health Prev Med* [Internet]. 1997 Jan [cited 2016 Jan 28];1(4):188–92. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2723531&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
34. Yoshida Y, Hatanaka Y, Imaki M, Ogawa Y, Miyatani S, Tanada S. Epidemiological study on improving the QOL and oral conditions of the aged--Part 2: Relationship between tooth loss and lifestyle factors for adults men. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* [Internet]. 2001 Nov [cited 2016 Jan 28];20(6):369–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11840690>
35. Schädel-Höpfner M, Windolf J, Antes G, Sauerland S, Diener MK. Evidence-based hand surgery: the role of Cochrane reviews. *J Hand Surg Eur Vol* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2016 Feb 3];33(2):110–7. Available from: <http://jhs.sagepub.com/content/33/2/110.full>

36. Bouamrane M-M, Macdonald C, Ounis I, Mair F. Protocol-Driven Searches for Medical and Health-Sciences Systematic Reviews [Internet]. Amati G, Crestani F, editors. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011 [cited 2016 Feb 3]. 188-200 p. (Lecture Notes in Computer Science; vol. 6931). Available from: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-642-23318-0>
37. McNamara ER, Scales CD. Role of systematic reviews and meta-analysis in evidence-based clinical practice. *Indian J Urol* [Internet]. Medknow Publications and Media Pvt. Ltd.; 2011 Oct 1 [cited 2016 Feb 3];27(4):520–4. Available from: <http://www.indianjurol.com/article.asp?issn=0970-1591;year=2011;volume=27;issue=4;spage=520;epage=524;aualast=McNamara>
38. Nieman DC. Moderate Exercise Improves Immunity and Decreases Illness Rates. *Am J Lifestyle Med* [Internet]. 2011 Apr 28 [cited 2016 Feb 1];5(4):338–45. Available from: <http://ajl.sagepub.com/content/5/4/338.abstract>
39. Trochimiak T, Hübner-Woźniak E. Effect of exercise on the level of immunoglobulin a in saliva. *Biol Sport* [Internet]. 2012 Dec [cited 2016 Feb 1];29(4):255–61. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4033058&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
40. Akimoto T, Kumai Y, Akama T, Hayashi E, Murakami H, Soma R, et al. Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. *Br J Sports Med* [Internet]. 2003 Feb [cited 2016 Jan 6];37(1):76–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1724582&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
41. Hasan A, Palmer RM. A clinical guide to periodontology: pathology of periodontal disease. *Br Dent J* [Internet]. Nature Publishing Group; 2014 Apr 25 [cited 2016 Jan 5];216(8):457–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.299>
42. Telford C, Coulter I, Murray L. Exploring socioeconomic disparities in self-reported oral health among adolescents in california. *J Am Dent*

- Assoc [Internet]. 2011 Jan [cited 2016 Feb 3];142(1):70–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21193770>
43. Siu PM, Pei XM, Teng BT, Benzie IF, Ying M, Wong SH. Habitual exercise increases resistance of lymphocytes to oxidant-induced DNA damage by upregulating expression of antioxidant and DNA repairing enzymes. *Exp Physiol* [Internet]. 2011 Sep [cited 2015 Dec 27];96(9):889–906. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21622964>
44. Olivo CR, Miyaji EN, Oliveira MLS, Almeida FM, Lourenço JD, Abreu RM, et al. Aerobic exercise attenuates pulmonary inflammation induced by *Streptococcus pneumoniae*. *J Appl Physiol* [Internet]. 2014 Nov 1 [cited 2016 Jan 2];117(9):998–1007. Available from: <http://jap.physiology.org/content/117/9/998>
45. Ragghianti Zangrando MS, Chambrone D, Pasin IM, Conde MC, Pannuti CM, de Lima LAPA. Two-year randomized clinical trial of enamel matrix derivative treated infrabony defects: radiographic analysis. *BMC Oral Health* [Internet]. 2014 Jan [cited 2016 May 30];14(149):2–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4266965&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

**ARTIGO 2 - EXERCÍCIO FÍSICO ATENUA A PERDA ÓSSEA  
ALVEOLAR E PREVINE COMPORTAMENTO ANSIOSO EM RATOS  
COM DOENÇA PERIODONTAL**

**(VERSÃO PRELIMINAR)**

**Artigo redigido de acordo com as normas para submissão no periódico  
*Physiology and Behavior.***

## **Exercício Físico Atenua a Perda Óssea Alveolar e Previne Comportamento Ansioso em Ratos com Doença Periodontal**

### **Resumo**

A resposta inflamatória gerada pela doença periodontal (PD) promove reabsorção óssea e, possivelmente, pode provocar transtornos psicológicos como ansiedade e depressão. O exercício físico regular promove benefícios tanto sobre a resposta inflamatória quanto sobre aspectos psicológicos. Entretanto, pouco foi investigado acerca dos efeitos do exercício sobre a PD, principalmente, considerando aspectos comportamentais relacionados à ansiedade e depressão. Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos do treinamento físico sobre parâmetros inflamatórios e comportamentais de ratos *Wistar* com PD induzida por ligadura. Vinte e quatro animais foram distribuídos em delineamento fatorial 2x2 (com e sem exercício, com e sem doença periodontal). Os animais dos grupos treinados realizaram oito semanas de natação com carga relativa a 5% do peso corporal. A PD foi induzida 14 dias antes do final do experimento e na última semana todos os animais foram submetidos ao *Marble Burying Test*. Análises histomorfométricas das mandíbulas e a expressão das citocinas IL-10, TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  (*Western Blotting*) foram realizadas. Além do comportamento ansioso e depressivo, avaliou-se também a morfometria dos astrócitos hipocâmpais marcados com *antiglial fibrillary acidic protein* (antiGFAP). O treinamento físico atenuou a perda óssea alveolar e a perda do nível de inserção

epitelial dos ratos com DP ( $p < 0,05$ ). Os animais treinados e com PD tiveram menor expressão de TNF- $\alpha$  nos tecidos periodontais enquanto a IL-10 foi aumentada em relação aos ratos com PD que não treinaram ( $p < 0,05$ ). A relação TNF- $\alpha$ /IL-10 foi menor nos animais com DP que realizaram treinamento, em comparação aos induzidos à periodontite ( $p < 0,05$ ). A PD aumentou o comportamento ansioso e depressivo, sendo que o treinamento diminuiu este parâmetro ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, o exercício aumentou as ramificações dos astrócitos hipocâmpais em relação aos animais dos grupos não-treinados ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se que o exercício físico melhorou a inflamação e a perda óssea de ratos com PD, além de diminuir os parâmetros relacionados à ansiedade e depressão.

**Palavras-chave:** Periodontite; Treinamento Físico; *Marble Burying test*; *Glial fibrillary acidic protein*.

## INTRODUÇÃO

A doença periodontal (PD) é uma inflamação crônica iniciada pelo acúmulo de biofilme nos tecidos adjacentes ao dente, que leva à reabsorção óssea e à perda do suporte dental[1]. Adicionalmente, existe a hipótese de que há relação entre transtornos psicológicos e a PD[2,3]. Assim, ansiedade, depressão e estresse, frequentemente, acometem indivíduos com esta doença [4,5] sendo considerados, frequentemente, como agentes predisponentes à DP[6–8]. Isto

ocorre, provavelmente, devido à diminuição na resposta imune frente ao transtorno psicológico, fato que resulta em uma menor proteção contra infecção patogênica que, conseqüentemente, exacerba a destruição do tecido periodontal[8]. Entretanto, é possível que exista uma relação bidirecional entre desordens psicológicas e a infecção, já que o aumento de citocinas pró-inflamatórias já foi associada a transtornos de ansiedade[9].

A elevação de mediadores pró-inflamatórios em portadores de PD é um dos aspectos que contribui para o aumento da perda óssea alveolar (ABL) desses indivíduos[10]. Desta forma, estudos têm investigado estratégias para impedir a progressão da ABL, sendo a maioria delas voltadas para agentes que melhoram a resposta imune do hospedeiro[11,12]. Dentre as estratégias conhecidas para promover imunomodulação, pode-se destacar o exercício físico[13]. A prática de atividades físicas, a longo prazo, pode deixar o organismo menos susceptível a inflamações e infecções[14,15], tornando este um aspecto promissor contra a progressão da PD. Adicionalmente, estudos demonstram que a prática de exercícios reduz a ansiedade e melhora as funções cerebrais em animais e humanos[16,17], sendo observado estimulação na neurogênese no hipocampo[17]. Esta melhora é confirmada por alterações na morfometria de astrócitos da região hipocampais, estando tais mudanças relacionadas à menor propensão do indivíduo desenvolver ansiedade e depressão[17,18]. Adicionalmente, a cronicidade de desordens relacionadas ao estresse, como

ansiedade e depressão pode provocar a retração e diminuição das ramificações de neurônios do hipocampo[19]. Todavia, no estágio atual do conhecimento, não se sabe os efeitos da PD sobre a morfologia dos astrócitos hipocampais, principalmente em animais submetidos a treinamento físico.

A literatura mostra que indivíduos fisicamente ativos têm menor propensão à PD em relação aos sedentários[16,20,21]. Entretanto, os efeitos do exercício físico sobre os parâmetros inflamatórios e ABL em indivíduos com PD foram pouco investigados, principalmente quando se considera a associação com aspectos psicológicos envolvidos. Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos do treinamento físico sobre parâmetros relacionados à perda óssea, status inflamatório periodontal e comportamento ansioso e depressivo em ratos com PD induzida por protocolo de ligadura.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Animais**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras, sob Protocolo 002/15. Os animais foram mantidos de acordo com o *Guide to the Care and Use of Experimental Animals* (1993)[22]. Vinte e quatro ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério Multiusuário da Universidade Federal de Lavras (UFLA) foram utilizados. Foram

selecionados animais saudáveis com peso inicial de, aproximadamente,  $218.2 \pm 24.8$ g. Durante todo o período experimental, os ratos foram acomodados em caixas coletivas de polipropileno (dimensões: 41 x 34 x 17,5 cm), com maravalha (para absorção de urina e água).

Inicialmente os ratos foram submetidos a sete dias de aclimação à sala de experimentação e à equipe. Durante todo o período experimental, os roedores permaneceram em condições ideais de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade ( $45 \pm 15\%$ ), e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12/12 horas). Ração comercial e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental.

Ao final da aclimação, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (G1: não treinado; G2: com PD; G3: treinado; G4: treinado e com PD) contendo seis animais cada. Utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (com ou sem exercício e com ou sem doença periodontal).

### **Treinamento Físico**

Após o período de aclimação mencionado, os animais dos grupos treinados foram submetidos à adaptação ao meio aquático. Nesta fase, os ratos permaneceram duas horas por dia, durante sete dias, em um tanque de polietileno com capacidade total de 500 litros contendo água (mantida na temperatura de aproximadamente  $32 \pm 2^\circ\text{C}$ ) até a profundidade de cinco

centímetros. Este período de adaptação foi realizado com o objetivo de reduzir o estresse dos animais frente ao ambiente aquático, sem causar, no entanto, adaptação física ao treinamento[23].

Na semana seguinte, os animais foram submetidos a sessões de natação com progressivo aumento no tempo. Esta fase consistiu de natação sem carga, com água na profundidade de 50 cm (de forma que os animais não tivessem contato com o fundo do tanque). Os ratos nadaram por 10 minutos no primeiro dia, e 10 minutos eram adicionados diariamente até que cada animal nadasse sem carga por 60 minutos ininterruptamente[24,25].

Durante as oito semanas subsequentes, os animais nadaram durante 60 minutos por dia, na frequência de cinco dias por semana, com uma carga relativa a 5% de seu peso corporal amarrada ao tórax. Esta carga foi utilizada para aumentar a capacidade *endurance* dos animais, caracterizando uma intensidade moderada de exercício aeróbio[24]. Depois de cada sessão de treinamento, os animais eram secados com toalhas absorventes e, depois de completamente secos, eram colocados de volta em suas respectivas caixas, como proposto pela American Physiological Society[26].

### **Indução de Doença Periodontal**

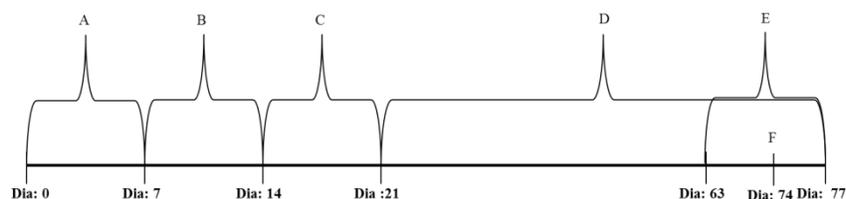
Quatorze dias antes do final do experimento os animais dos grupos com DP foram submetidos ao protocolo de ligadura no primeiro molar mandibular

conforme descrito por Messoria[11]. Tal procedimento foi realizado sob anestesia geral (cloridrato de xilazina a 10 mg/kg e cloridrato de cetamina a 80 mg/kg via intraperitoneal). Os animais dos grupos com exercício não realizaram treinamento físico nas 24 horas anteriores, bem como nas 24 horas posteriores à indução, sendo que após este período eles voltaram à rotina normal de treinamento. Os ratos permaneceram com a ligadura durante 14 dias, até o momento da eutanásia.

### **Avaliação do Comportamento Ansioso e Depressivo pelo teste Marble Burying**

Na última semana de experimento (dia 74), os animais foram submetidos ao *Marble Burying test*, para avaliação do comportamento ansioso e depressivo, utilizando a metodologia descrita em estudos prévios[27–29]. Este teste foi utilizado devido à tendência que roedores ansiosos e depressivos têm de enterrar novos objetos, sendo que a administração de ansiolíticos reduz ou inibe este comportamento[27,29]. Para realização do teste foi utilizada uma caixa de polipropileno, contendo maravalha a cinco centímetros de profundidade, com as mesmas dimensões da caixa em que os animais permaneciam alojados durante o experimento. Inicialmente, cada animal foi colocado individualmente por cinco minutos na caixa com maravalha nova e limpa, para reconhecimento do ambiente. Posteriormente, o rato era retirado e 16 bolinhas de vidro eram

distribuídas uniformemente sobre a maravalha de forma que não afundassem espontaneamente. Então, o rato era colocado novamente na caixa, onde permanecia durante 30 minutos, até que o pesquisador o retirasse para avaliação e contagem das peças que foram enterradas. Durante o teste, os pesquisadores permaneceram fora da sala de experimentação para que não houvesse interferências externas. Foram consideradas enterradas as bolinhas que estavam com mais de 2/3 de seu volume submerso na maravalha[27]. Todas as análises foram realizadas por um mesmo avaliador previamente treinado. As etapas experimentais são apresentadas na figura 1.



**Figura 1:** Fluxograma das etapas realizadas durante o período experimental. A: Aclimação. B: Ambientação ao meio aquático. C: Natação com incremento de tempo. D: Natação com carga relativa a 5% do peso corporal, cinco dias por semana. E: Período de doença periodontal. F: Análise do comportamento ansioso e depressivo através do *Marble Burying Test*.

### Eutanásia e coleta de material biológico

Ao final do período experimental, os animais foram submetidos a jejum de oito horas e, posteriormente, eutanasiados por punção cardíaca sob anestesia (Tiopental Sódico 50 mg/kg i.p.). Posteriormente, foi retirada a mandíbula

esquerda, o tecido gengival que recobre o primeiro molar e o cérebro de cada animal. As gengivas foram coletadas e, imediatamente armazenadas a 4° C em tampão RIPA (Sigma, Eugene, OR, USA), contendo *cocktail* inibidor de protease (SIGMA). As mandíbulas e cérebros foram imersos em formalina tamponada a 10% para posterior processamento histológico.

### **Avaliação da Perda Óssea Alveolar e Perda de Inserção Epitelial**

Após permanecerem 48 horas em solução de formalina 10%, as mandíbulas foram transferidas para solução de EDTA 10% até descalcificação. Posteriormente, o material foi processado rotineiramente e foram feitos cortes histológicos (5 µm) da face vestibular das mandíbulas, que foram corados com hematoxilina e eosina conforme descrito por Dai et al.[30]. As lâminas, então, foram fotografadas (com aproximação de 4×) utilizando um sistema de captura e análise de imagens, consistindo de microscópio binocular Olympus CX31 (Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brazil), com câmera acoplada (SC30 CMOS Color Camera for Light Microscopy, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brazil). As medidas foram feitas usando o software Image-Pro<sup>®</sup> Express versão 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD, USA). A perda óssea alveolar (ABL) foi avaliada através da mensuração da distância (mm) entre a junção cimento-esmalte (CEJ) e a crista óssea alveolar (COA) entre o primeiro e segundo molar[30]. A perda de inserção epitelial (attachment loss -

AL) foi calculada utilizando o valor da distância entre a junção cimento-esmalte e a junção epitelial (EA)[11]. A média das medidas de 10 cortes seriados de cada animal foi obtida para representação da perda óssea.

### **Avaliação de citocinas inflamatórias no tecido gengival pela técnica de *Western blot***

A solução contendo as gengivas foi homogeneizada, centrifugada (12,000 rpm por 10 min) e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -20° C. Foi realizada então a quantificação das proteínas totais na amostra utilizando o método de Bredford[31]. Adicionou-se Laemmli buffer (taxa de diluição de 5×), e ferveu-se a solução durante 5 min a 95 °C. O extrato das proteínas totais (aproximadamente 20 µg/poço) foi corrido em gel 12 % SDS PAGE a 120 V por cerca de 2.5 horas[32]. As proteínas dos géis SDS foram transferidas por eletroforese para membranas de nitrocelulose utilizando o equipamento Trans Blot Apparatus (Bio-Rad laboratories, Hercules, CA, USA) durante 2 h a 80 V. As ligações não específicas foram bloqueadas, incubando as membranas em solução de 3% de albumina diluída em trisma base solution–Tween (TBST), por 60 minutos em temperatura ambiente. As membranas foram incubadas com anticorpo primário anti-TNF- $\alpha$ , anti-IL-1 $\beta$ , anti-IL-10 e anti- $\beta$ -actina (Santa Cruz, CA, USA), diluídos em solução bloqueadora nas concentrações de 1:1000

e permaneceram *overnight* a 4 °C. As membranas foram lavadas posteriormente com solução TBS/Tween-20 e então incubadas por uma hora em temperatura ambiente com o anticorpo secundário diluído em solução bloqueadora (concentração de 1:10000). As membranas foram lavadas com TBS/Tween-20 e a reação imune foi detectada utilizando solução quimioluminescente. A intensidade de luz gerada pela reação foi então detectada por um filme radiográfico. As intensidades das bandas foram quantificadas utilizando o *software* UN-SCAN-IT gel 6.1 (Silk Scientific; Orem, UT). Os resultados foram normalizados utilizando-se as bandas do controle endógeno B-actina (1:10000, Rabbit ABCAM). Adicionalmente, foram calculadas as relações TNF- $\alpha$ /IL-10 e IL-1 $\beta$ /IL-10, de forma a estimar o perfil inflamatório local. De acordo com Górska et al.[33], o aumento em qualquer uma destas relações pode ser considerado um indicativo de maior gravidade na PD.

### **Imuno - histoquímica e avaliação morfológica dos astrócitos do hipocampo**

Depois de fixados em formalina a 10%, foi realizado o corte sagital nos cérebros e o hemisfério esquerdo foi processado para preparação das lâminas de histologia. Os cortes foram submetidos à imuno-histoquímica utilizando o anticorpo *anti-gial fibrillary acidic protein* (GFAP; Dako), na diluição de 1:1000 com recuperação antigênica em tampão citrato (pH 6.0), realizado em

banho-maria por seis minutos em micro-ondas na potência máxima, conforme descrito por Costa et al.[34].

Para análise morfológica dos astrócitos foi utilizada a técnica, com modificações, descrita por Cerbai et al.[35]. Foram capturadas imagens (aproximação de 40x) de quatro diferentes locais do hipocampo, escolhidos aleatoriamente. Assim, foi medido o comprimento das quatro principais ramificações de quatro astrócitos de cada animal, utilizando o *software* ImageJ. A média dos valores obtidos para cada astrócito foi utilizada para expressar o comprimento das ramificações. Esta área do cérebro foi escolhida devido à influência que transtornos como ansiedade e depressão exercem sobre plasticidade dos astrócitos[17].

Todas as análises histomorfométricas foram realizadas por um único avaliador e todas as avaliações conduzidas neste estudo foram cegas em relação aos grupos experimentais.

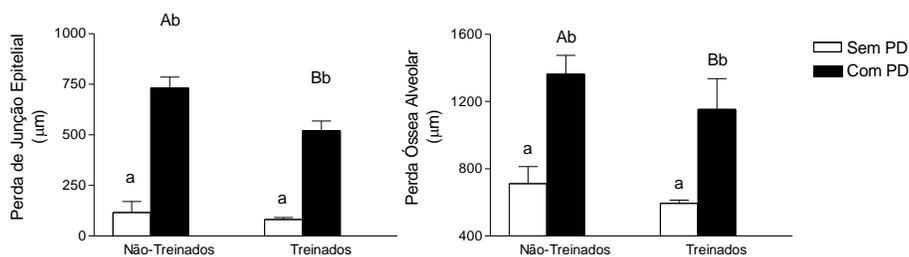
### **Análises Estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para comparação das médias entre os grupos em modelo fatorial 2x2 (com ou sem exercício e com ou sem doença periodontal). Quando os valores de F indicaram diferenças significativas nas interações, foi feito desdobramento entre os fatores. Os dados não paramétricos obtidos no *Marble Burying Test* foram analisados

por Kruskal-Wallis e teste de *Student–Newman–Keuls* como *post hoc*. As análises foram realizadas utilizando o *software* SISVAR versão 5.3 [36]. O nível de significância foi adotado em  $p < 0,05$ . Os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

## RESULTADOS

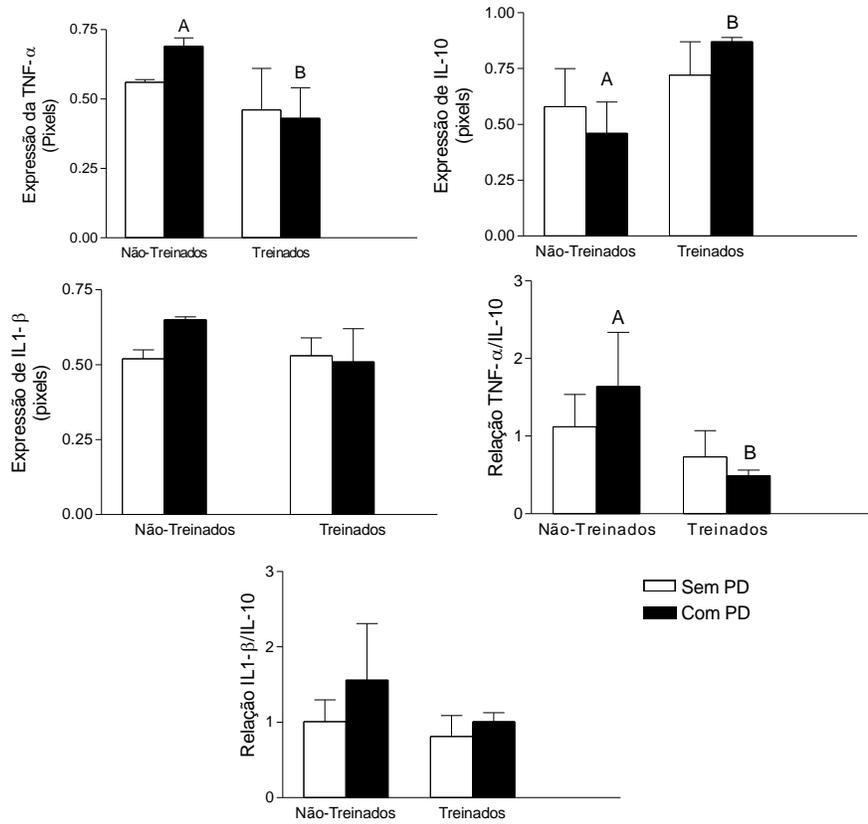
A ABL e o AL dos ratos com PD foi maior que dos demais animais, independente do fato de serem treinados ou não ( $p < 0,05$ ). Entretanto, os ratos treinados que foram submetidos à ligadura tiveram estas perdas atenuadas ( $p < 0,05$  – figura 2).



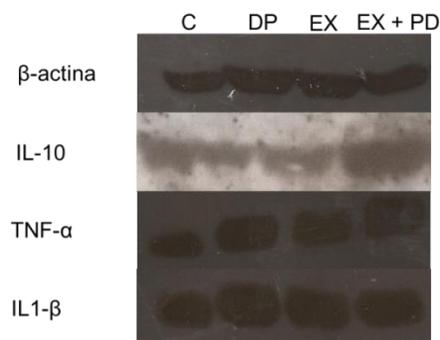
**Figura 2:** Perda óssea alveolar (ABL) e perda de inserção epitelial (AL) de ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste F,  $p < 0,05$ ). <sup>a-b</sup> Letras minúsculas indicam diferença entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste F,  $p < 0,05$ ).

O treinamento físico diminuiu a expressão da TNF- $\alpha$  no tecido periodontal dos animais com PD em relação aos não treinados que tinham a

doença ( $p < 0,05$ ). Já a expressão da IL-10 neste tecido foi aumentada frente ao treinamento, nos animais com DP em relação aos ratos com DP não treinados ( $p < 0,05$ ). A expressão da IL-1 $\beta$  não diferiu entre os grupos. A relação TNF- $\alpha$ /IL-10 foi menor nos animais com DP que foram treinados quando comparados aos com DP, enquanto a relação IL-1 $\beta$ /IL-10 não diferiu significativamente entre os grupos (Figura 3). A representação da expressão destas citocinas é apresentada na figura 4.

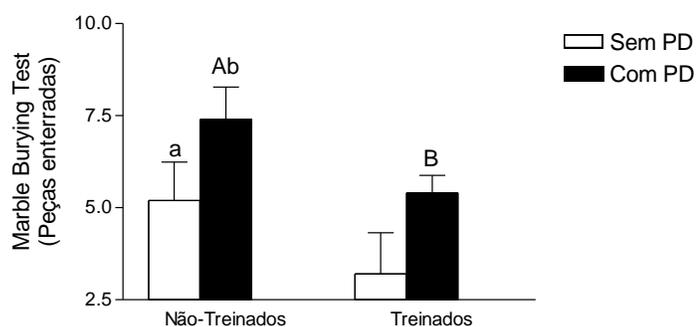


**Figura 3:** Valores médios da expressão das citocinas IL-10, TNF- $\alpha$  e IL-1- $\beta$  no tecido gengival de ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste F,  $p < 0,05$ ).



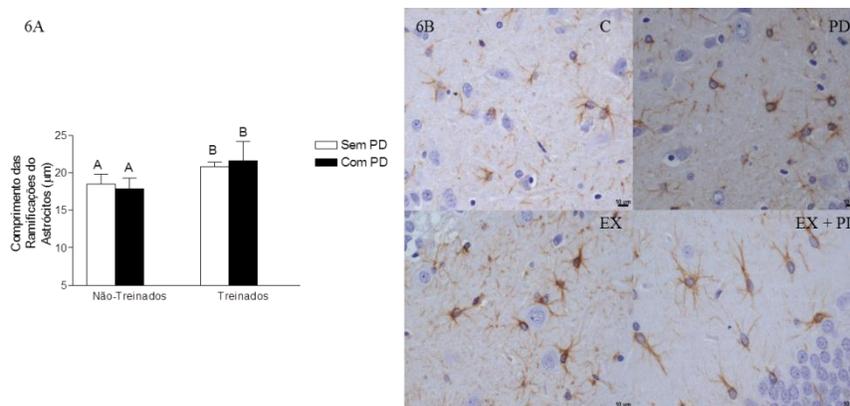
**Figura 4:** Representação das citocinas  $\beta$ -actina, IL-10, TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  expressas no tecido gengival de ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. C – Grupo não treinado. DP – Grupo não treinado e com doença periodontal. EX – Grupo treinado. EX + DP – Grupo treinado e com doença periodontal.

Os valores obtidos no *Marble Burying Test* foram superiores nos animais com PD não treinados ( $p < 0,05$ ). Porém, tais valores foram diminuídos nos ratos com PD treinados ( $p < 0,05$  - Figura 5).



**Figura 5:** Valores médios dos resultados relativos ao comportamento ansioso e depressivo avaliados através do *Marble Burying Test* em ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste *Student–Newman–Keuls*,  $p < 0,05$ ). <sup>a-b</sup> Letras minúsculas indicam diferença entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste *Student–Newman–Keuls*,  $p < 0,05$ ).

O comprimento médio das ramificações dos astrócitos do hipocampo nos animais treinados foram maiores em comparação ao dos não treinados ( $p < 0,05$ ), sendo que a presença de PD não afetou significativamente este parâmetro (Figura 6A). Na figura 6B é mostrada a representação dos astrócitos por grupo experimental.



**Figura 6:** (A) Valores médios das ramificações dos astrócitos hipocâmpais de ratos *Wistar* com e sem doença periodontal, treinados e não treinados. <sup>A-B</sup> Letras maiúsculas indicam diferença entre os grupos treinados e não treinados (Teste F,  $p < 0,05$ ). (B) Representação dos astrócitos na região do hipocampo dos grupos experimentais. C – Grupo não treinado. DP – Grupo não treinado e com doença periodontal. EX – Grupo treinado. EX + DP – Grupo treinado e com doença periodontal.

## DISCUSSÃO

Os principais resultados observados no presente estudo foram os efeitos benéficos do treinamento físico sobre a progressão da PD e a melhora do perfil inflamatório periodontal, assim como a diminuição de parâmetros relacionados à

ansiedade e depressão nos animais. Adicionalmente, confirmamos a hipótese de que a DP aumenta a propensão à ansiedade e depressão, como observado nos resultados do *Marble Burying Test*.

Em humanos, diversos estudos observaram que transtornos psicológicos como depressão e ansiedade acomete pacientes portadores de PD[2,37,38]. Esta associação pode ocorrer devido ao fato de que indivíduos ansiosos e depressivos geralmente apresentam baixa autoestima, fato que promove a diminuição nos cuidados com a higiene oral, além de alterar negativamente a dieta[39]. Estes fatores, quando conjugados, contribuem para a progressão e piora de doenças orais como a PD[39]. Além disso, hormônios como o cortisol (ou corticosterona em ratos) e catecolaminas aumentam em casos de estresse psicológico e depressão, elevando a susceptibilidade a infecções[8,9]. Adicionalmente, indivíduos em estados depressivos apresentam maiores níveis de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IL-1, bem como nos de proteína-C reativa[9]. Alguns estudos consideram que pode existir uma relação bidirecional entre depressão e inflamação, sendo que a presença de uma pode predispor ao aparecimento da outra[8,9]. Desta forma, a infecção pode predispor à depressão e ansiedade, como observado em casos de depressão induzida por citocinas, onde a imunoterapia piorou estas desordens psicológicas em pacientes que receberam citocinas recombinantes (IL-2 e IFN- $\alpha$ ) para tratamento de tumores ou hepatite C[40]. O mesmo foi observado em modelo animal onde ratos injetados com

lipopolissacarídeo apresentaram sintomas de depressão[41]. Os mecanismos que explicam este comportamento estão relacionados com o fato de que citocinas pró-inflamatórias podem ativar exageradamente o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e modular a neurotransmissão serotoninérgica devido à alteração nos níveis de triptofano[42].

Considerando os resultados do presente estudo, onde o treinamento físico reduziu os parâmetros relacionados à perda óssea bem como os sintomas de depressão e ansiedade dos animais, pode-se inferir que o exercício melhora ambos os aspectos. Além disso, pode-se considerar que a relação bidirecional entre inflamação e depressão realmente existe. A diminuição do comportamento ansioso e depressivo frente ao treinamento pode estar relacionada, no presente estudo, tanto à melhoria da inflamação gengival (confirmada pelo aumento da IL-10 e diminuição na TNF- $\alpha$  e na relação TNF- $\alpha$ /IL-10), quanto às variações na morfologia dos astrócitos hipocâmpais nos animais treinados. Alterações morfológicas nos astrócitos ocorrem frente a distúrbios como stress, ansiedade e depressão, sendo observado que, em tais situações, há a diminuição no tamanho das ramificações destas células no hipocampo[18].

No presente estudo, os ratos treinados apresentaram aumento no comprimento das principais ramificações dos astrócitos em comparação aos animais não treinados. Variações semelhantes também foram observadas por Saur et al.[17] em ratos submetidos ao treinamento em esteira. Este autor

descreve que tais alterações nos astrócitos hipocampais podem aumentar o aporte de nutrientes para os neurônios, bem como estimular a angiogênese cerebral[17]. Sugere-se que isto ocorra frente ao treinamento devido ao aumento no metabolismo astrogliar e síntese proteica oriunda da maior demanda fisiológica exercida por uma hipertrofia celular não patológica[17,43]. Adicionalmente, o aumento no número e tamanho de ramificações em astrócitos está relacionado a melhorias cognitivas, como observado em ratos idosos submetidos a enriquecimento ambiental[44].

A atenuação da ABL e AL, nos animais treinados, pode estar relacionada à melhoria do perfil inflamatório, já que houve aumento na expressão de IL-10 e diminuição na expressão de TNF- $\alpha$  nos tecidos adjacentes ao dente destes animais. Adicionalmente, a diminuição na relação TNF- $\alpha$ /IL-10, observada frente ao treinamento nos animais com DP, confirma a melhora no *status* inflamatório, visto que o aumento nesta relação é um indicativo de maior gravidade na periodontite[45]. A IL-10 exerce um forte papel anti-inflamatório e seu aumento está relacionado à preservação óssea principalmente por inibir a osteoclastogênese[46]. Adicionalmente, a IL-10 pode diminuir a expressão da TNF- $\alpha$  que atua como citocina pró-inflamatória ativadora de osteoclastos[46], sendo este comportamento observado no presente estudo. Tanto a TNF- $\alpha$  quanto a IL-1 $\beta$  exercem um papel importante na progressão da PD[47,48] e ambas

foram reduzidas, no presente estudo, pela atividade física (porém IL-1 $\beta$  não atingiu diferença significativa).

## CONCLUSÃO

O treinamento físico atenuou a progressão da PD, melhorou o perfil inflamatório periodontal, e diminuiu o comportamento ansioso e depressivo em ratos com DP. Desta forma, a prescrição de exercícios pode ser adotada como estratégia preventiva contra o agravamento da DP, além de diminuir ansiedade e depressão em grupos de risco.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio fornecido.

## REFERÊNCIAS

- [1] B.L. Pihlstrom, B.S. Michalowicz, N.W. Johnson, Periodontal diseases., *Lancet* (London, England). 366 (2005) 1809–20. doi:10.1016/S0140-6736(05)67728-8.
- [2] A.E. Rosania, K.G. Low, C.M. McCormick, D.A. Rosania, Stress, Depression, Cortisol, and Periodontal Disease, *J. Periodontol.* 80 (2009) 260–266. doi:10.1902/jop.2009.080334.

- [3] A.L. Dumitrescu, Psychological perspectives on the pathogenesis of periodontal disease., *Rom. J. Intern. Med.* 44 (2006) 241–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18386604> (accessed October 18, 2015).
- [4] T. Khambaty, J.C. Stewart, Associations of depressive and anxiety disorders with periodontal disease prevalence in young adults: analysis of 1999-2004 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) data., *Ann. Behav. Med.* 45 (2013) 393–7. doi:10.1007/s12160-013-9471-0.
- [5] S. Kesim, D. Unalan, C. Esen, A. Ozturk, The relationship between periodontal disease severity and state-trait anxiety level., *J. Pak. Med. Assoc.* 62 (2012) 1304–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23866479> (accessed October 18, 2015).
- [6] M. Vettore, R.S. Quintanilha, A.M. Monteiro da Silva, G.A. Lamarca, A.T.T. Leão, The influence of stress and anxiety on the response of non-surgical periodontal treatment., *J. Clin. Periodontol.* 32 (2005) 1226–35. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00852.x.
- [7] A. Johannsen, M. Asberg, P.-O. Söder, B. Söder, Anxiety, gingival inflammation and periodontal disease in non-smokers and smokers - an epidemiological study., *J. Clin. Periodontol.* 32 (2005) 488–91. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00704.x.
- [8] K.R. Warren, T.T. Postolache, M.E. Groer, O. Pinjari, D.L. Kelly, M.A. Reynolds, Role of chronic stress and depression in periodontal diseases., *Periodontol.* 2000. 64 (2014) 127–38. doi:10.1111/prd.12036.
- [9] M.B. Howren, D.M. Lamkin, J. Suls, Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis., *Psychosom. Med.* 71 (2009) 171–86. doi:10.1097/PSY.0b013e3181907c1b.
- [10] M. Muluke, T. Gold, K. Kiefhaber, A. Al-Sahli, R. Celenti, H. Jiang, et al., Diet-Induced Obesity and Its Differential Impact on Periodontal Bone Loss, *J. Dent. Res.* (2015). doi:10.1177/0022034515609882.
- [11] M.R. Messoria, L.F.F. Oliveira, R.C. Foureaux, M. Taba, M.G. Zangeronimo, F. a C. Furlaneto, et al., Probiotic therapy reduces

periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis., *J. Periodontol.* 84 (2013) 1818–1826. doi:10.1902/jop.2013.120644.

- [12] V. de O. Silva, R.V. Lobato, E.F. Andrade, C.G. de Macedo, J.T.C. Napimoga, M.H. Napimoga, et al.,  $\beta$ -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) Reduce Glucose Levels and Attenuate Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats with Periodontal Disease., *PLoS One.* 10 (2015) e0134742. doi:10.1371/journal.pone.0134742.
- [13] G.I. Lancaster, M.A. Febbraio, The immunomodulating role of exercise in metabolic disease., *Trends Immunol.* 35 (2014) 262–9. doi:10.1016/j.it.2014.02.008.
- [14] J.G. Cannon, Exercise and resistance to infection., *J. Appl. Physiol.* 74 (1993) 973–81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8482693> (accessed October 19, 2015).
- [15] A.M.W. Petersen, B.K. Pedersen, The anti-inflammatory effect of exercise., *J. Appl. Physiol.* 98 (2005) 1154–62. doi:10.1152/japplphysiol.00164.2004.
- [16] E. Anderson, G. Shivakumar, Effects of exercise and physical activity on anxiety., *Front. Psychiatry.* 4 (2013) 27. doi:10.3389/fpsy.2013.00027.
- [17] L. Saur, P.P.A. Baptista, P.N. de Senna, M.F. Paim, P. do Nascimento, J. Ilha, et al., Physical exercise increases GFAP expression and induces morphological changes in hippocampal astrocytes, *Brain Struct. Funct.* 219 (2013) 293–302. doi:10.1007/s00429-012-0500-8.
- [18] C.L. Bender, G.D. Calfa, V.A. Molina, Astrocyte plasticity induced by emotional stress: A new partner in psychiatric physiopathology?, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 65 (2015) 68–77. doi:10.1016/j.pnpbp.2015.08.005.
- [19] B. Leuner, T.J. Shors, Stress, anxiety, and dendritic spines: what are the connections?, *Neuroscience.* 251 (2013) 108–19. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.04.021.
- [20] A.T. Merchant, W. Pitiphat, E.B. Rimm, K. Joshipura, Increased physical activity decreases periodontitis risk in men., *Eur. J. Epidemiol.* 18 (2003)

- 891–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14561049> (accessed October 19, 2015).
- [21] V.M. Mendoza-Núñez, B. Hernández-Monjaraz, E. Santiago-Osorio, J.M. Betancourt-Rule, M. Ruiz-Ramos, Tai Chi exercise increases SOD activity and total antioxidant status in saliva and is linked to an improvement of periodontal disease in the elderly., *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014 (2014) 603853. doi:10.1155/2014/603853.
- [22] Canadian Council on Animal Care, Guide to the care and use of experimental animals, 1993. [http://www.aaalac.org/accreditation/RefResources/CCAC\\_Experimental\\_Animals\\_Voll.pdf](http://www.aaalac.org/accreditation/RefResources/CCAC_Experimental_Animals_Voll.pdf) (accessed February 5, 2016).
- [23] L.M. Rambo, L.R. Ribeiro, M.S. Oliveira, A.F. Furian, F.D. Lima, M.A. Souza, et al., Additive anticonvulsant effects of creatine supplementation and physical exercise against pentylenetetrazol-induced seizures., *Neurochem. Int.* 55 (2009) 333–40. doi:10.1016/j.neuint.2009.04.007.
- [24] C.A. Gobatto, M.A. de Mello, C.Y. Sibuya, J.R. de Azevedo, L.A. dos Santos, E. Kokubun, Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise., *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 130 (2001) 21–7. doi:10.1016/S1095-6433(01)00362-2.
- [25] F.D. Lima, M.S. Oliveira, A.F. Furian, M.A. Souza, L.M. Rambo, L.R. Ribeiro, et al., Adaptation to oxidative challenge induced by chronic physical exercise prevents Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity inhibition after traumatic brain injury., *Brain Res.* 1279 (2009) 147–55. doi:10.1016/j.brainres.2009.04.052.
- [26] American Physiological Society (APS), Exercise protocols using rats and mice, in: *Resour. B. Des. Anim. Exerc. Protoc.*, 1st ed., National Academy Press, Washington, 2006: p. 152. <http://www.the-aps.org/mm/SciencePolicy/AnimalResearch/Publications/Animal-Exercise-Protocols/book14824.pdf>.
- [27] G.P. Castro, D. de C. Medeiros, L. de O. Guarnieri, F.A.G. Mourão, H.P.P. Pinto, G.S. Pereira, et al., Wistar audiogenic rats display abnormal behavioral traits associated with artificial selection for seizure susceptibility, *Epilepsy Behav.* (2015). doi:10.1016/j.yebeh.2015.08.039.

- [28] S.E. Lazic, Analytical strategies for the marble burying test: avoiding impossible predictions and invalid p-values., *BMC Res. Notes.* 8 (2015) 1–10. doi:10.1186/s13104-015-1062-7.
- [29] L.B. Nicolas, Y. Kolb, E.P.M. Prinssen, A combined marble burying-locomotor activity test in mice: a practical screening test with sensitivity to different classes of anxiolytics and antidepressants., *Eur. J. Pharmacol.* 547 (2006) 106–15. doi:10.1016/j.ejphar.2006.07.015.
- [30] J. Dai, Y. Ma, M. Shi, Z. Cao, Y. Zhang, R.J. Miron, Initial changes in alveolar bone volume for sham-operated and ovariectomized rats in ligature-induced experimental periodontitis, *Clin. Oral Investig.* (2015). doi:10.1007/s00784-015-1531-3.
- [31] M.M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72 (1976) 248–254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- [32] M. Neri, S. Cantatore, C. Pomara, I. Riezzo, S. Bello, E. Turillazzi, et al., Immunohistochemical expression of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and involvement of COX-2, quantitatively confirmed by Western blot analysis, in Wernicke's encephalopathy., *Pathol. Res. Pract.* 207 (2011) 652–8. doi:10.1016/j.prp.2011.07.005.
- [33] R. Górska, H. Gregorek, J. Kowalski, A. Laskus-Perendyk, M. Syczewska, K. Madaliński, Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis., *J. Clin. Periodontol.* 30 (2003) 1046–52. doi:10.1046/j.0303-6979.2003.00425.x.
- [34] R.C. Costa, D.R. Orlando, C.C. Abreu, K.Y.R. Nakagaki, L.P. Mesquita, L.C. Nascimento, et al., Histological and immunohistochemical characterization of the inflammatory and glial cells in the central nervous system of goat fetuses and adult male goats naturally infected with *Neospora caninum*., *BMC Vet. Res.* 10 (2014) 291. doi:10.1186/s12917-014-0291-7.
- [35] F. Cerbai, D. Lana, D. Nosi, P. Petkova-Kirova, S. Zecchi, H.M. Brothers, et al., The neuron-astrocyte-microglia triad in normal brain

- ageing and in a model of neuroinflammation in the rat hippocampus., *PLoS One*. 7 (2012) e45250. doi:10.1371/journal.pone.0045250.
- [36] D.F. Ferreira, Sisvar: a computer statistical analysis system, *Ciência E Agrotecnologia*. 35 (2011) 1039–1042. doi:10.1590/S1413-70542011000600001.
- [37] A. Passoja, I. Puijola, M. Knuuttila, O. Niemelä, R. Karttunen, T. Raunio, et al., Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- $\alpha$  in chronic periodontitis., *J. Clin. Periodontol*. 37 (2010) 881–7. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01602.x.
- [38] Q. Zhang, B. Chen, F. Yan, J. Guo, X. Zhu, S. Ma, et al., Interleukin-10 inhibits bone resorption: a potential therapeutic strategy in periodontitis and other bone loss diseases., *Biomed Res. Int*. 2014 (2014) 284836. doi:10.1155/2014/284836.
- [39] S. Kaur, S. White, P.M. Bartold, Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review., *J. Dent. Res*. 92 (2013) 399–408. doi:10.1177/0022034513483142.
- [40] M. Claudino, A.P.F. Trombone, C.R. Cardoso, S.B. Ferreira, W. Martins, G.F. Assis, et al., The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome., *J. Leukoc. Biol*. 84 (2008) 1565–73. doi:10.1189/jlb.0308184.
- [41] S. Sundararajan, S. Muthukumar, S.R. Rao, Relationship between depression and chronic periodontitis., *J. Indian Soc. Periodontol*. 19 294–6. doi:10.4103/0972-124X.153479.
- [42] A. Laforgia, M. Corsalini, G. Stefanachi, F. Pettini, D. Di Venere, Assessment of Psychopatologic Traits in a Group of Patients with Adult Chronic Periodontitis: Study on 108 Cases and Analysis of Compliance during and after Periodontal Treatment., *Int. J. Med. Sci*. 12 (2015) 832–9. doi:10.7150/ijms.12317.
- [43] M.L. Silveira, B.W. Whitcomb, P. Pekow, E.T. Carbone, L. Chasan-Taber, Anxiety, depression, and oral health among US pregnant women: 2010 Behavioral Risk Factor Surveillance System., *J. Public Health Dent*. (2015). doi:10.1111/jphd.12112.

- [44] M. Wichers, M. Maes, The psychoneuroimmuno-pathophysiology of cytokine-induced depression in humans., *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 5 (2002) 375–88. doi:10.1017/S1461145702003103.
- [45] F. Frenois, M. Moreau, J. O'Connor, M. Lawson, C. Micon, J. Lestage, et al., Lipopolysaccharide induces delayed FosB/DeltaFosB immunostaining within the mouse extended amygdala, hippocampus and hypothalamus, that parallel the expression of depressive-like behavior., *Psychoneuroendocrinology.* 32 (2007) 516–31. doi:10.1016/j.psyneuen.2007.03.005.
- [46] R. Dantzer, J.C. O'Connor, G.G. Freund, R.W. Johnson, K.W. Kelley, From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain., *Nat. Rev. Neurosci.* 9 (2008) 46–56. doi:10.1038/nrn2297.
- [47] M. Eddleston, L. Mucke, Molecular profile of reactive astrocytes--implications for their role in neurologic disease., *Neuroscience.* 54 (1993) 15–36. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8515840> (accessed October 27, 2015).
- [48] P. Sampedro-Piquero, P. De Bartolo, L. Petrosini, C. Zancada-Menendez, J.L. Arias, A. Begega, Astrocytic plasticity as a possible mediator of the cognitive improvements after environmental enrichment in aged rats., *Neurobiol. Learn. Mem.* 114 (2014) 16–25. doi:10.1016/j.nlm.2014.04.002.

**ARTIGO 3 - EXERCÍCIO FÍSICO MELHORA O PERFIL GLICÊMICO  
E ATENUA A PROGRESSÃO DA PERIODONTITE EM RATOS  
DIABÉTICOS (HFD/STZ) COM DOENÇA PERIODONTAL**

**(VERSÃO PRELIMINAR)**

**Artigo redigido de acordo com as normas para submissão no periódico  
*Journal of Periodontology.***

## **Exercício Físico Melhora o Perfil Glicêmico e Atenua a Progressão da Periodontite em Ratos Diabéticos (HFD/STZ) com Doença Periodontal**

### **Resumo**

A doença periodontal (DP) é uma inflamação crônica com alta prevalência em pacientes com Diabetes *mellitus* (DM). Existe uma relação bidirecional entre estas doenças, sendo que a presença de uma delas pode predispor à piora da outra. O exercício físico pode melhorar tanto o controle glicêmico quanto a resposta inflamatória e imunológica. Entretanto, os efeitos do exercício sobre estes parâmetros ainda não foram investigados frente à associação entre o DM e a DP. Desta forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos do treinamento físico sobre o metabolismo e progressão da DP em ratos diabéticos (HFD/STZ) com DP. Quarenta animais foram distribuídos em esquema fatorial 2x2x2 (com e sem exercício, com e sem diabetes, com e sem doença periodontal). O DM foi induzido através da administração de dieta hiperlipídica por quatro semanas associada a uma dose única de estreptozotocina (35 mg/Kg do animal). Durante as oito semanas seguintes os animais realizaram natação por 60 minutos diários, cinco vezes por semana. Faltando 14 dias para o final do experimento, a DP foi induzida através de ligadura no primeiro molar mandibular. A perda óssea alveolar foi avaliada por meio de morfometria das mandíbulas coradas com azul de metileno e o perfil bioquímico sanguíneo por

meio de kits comerciais. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas por teste F ( $p < 0,05$ ). Os animais diabéticos que foram treinados apresentaram menores valores de perda óssea, glicemia, triacilgliceróis e hemoglobina glicada. Não houve alterações nos valores de colesterol total e frações. Conclui-se que o exercício melhorou o controle glicêmico e atenuou a perda óssea alveolar em ratos diabéticos e com DP.

**Palavras-chave:** Periodontite; Treinamento Físico; Distúrbio Metabólico; Perda Óssea Alveolar.

### **Introdução**

O Diabetes *Mellitus* (DM) é uma desordem metabólica caracterizada pela hiperglicemia crônica decorrente da produção deficiente de insulina (DM tipo 1) ou pela resistência (DM tipo 2) à ação deste hormônio em fases iniciais da doença.<sup>1</sup> Estima-se que 285 milhões de pessoas no mundo são diabéticas, sendo que 90% destas apresentam DM tipo 2.<sup>2</sup> Adicionalmente, os casos de DM tipo 2 tem aumentado em países em desenvolvimento devido à elevada incidência de obesidade e sobrepeso em suas populações.<sup>3</sup>

Indivíduos diabéticos, especialmente aqueles não tratados, frequentemente apresentam complicações cardiovasculares, renais, retinopatias e neuropatias além de maior propensão ao desenvolvimento de afecções bucais severas, dentre elas a doença periodontal (DP).<sup>4</sup> A DP é iniciada por bactérias

que formam um biofilme sobre o dente, fazendo com que o paciente desenvolva uma resposta inflamatória que afeta os tecidos de suporte dentário.<sup>5</sup> Esta doença é considerada sexta comorbidade mais prevalente do DM.<sup>6</sup> Considera-se ainda que exista uma relação bidirecional entre a DP e o DM, de forma que a presença de DP pode prejudicar o controle glicêmico e o DM aumentar a gravidade e acelerar a progressão da perda óssea periodontal.<sup>7,8</sup>

O tratamento convencional do DM (principalmente o tipo 2) envolve geralmente a mudança de hábitos de vida, como o controle da ingestão alimentar e incremento da atividade física, sendo eventualmente complementado com o uso de hipoglicemiantes orais e/ou uso de insulina dependendo da severidade da doença.<sup>9</sup> Neste sentido, foi demonstrado que indivíduos fisicamente ativos apresentam menor propensão em desenvolver formas mais graves da DP quando comparados àqueles sedentários.<sup>10</sup>

Estudos investigando os efeitos da prática regular de atividade física em pacientes diabéticos portadores de doença periodontal são escassos, especialmente quando aspectos inflamatórios, metabólicos são avaliados simultaneamente. Desta forma, considerando-se que a prática de exercícios físicos pode modular a resposta imune/inflamatória<sup>11,12</sup> e melhorar o controle glicêmico<sup>13</sup>, esta pode tornar-se uma estratégia interessante no tratamento de pacientes acometidos por ambas as doenças. Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do exercício sobre o perfil metabólico e

progressão da DP em ratos diabéticos (HFD/STZ) com DP induzida por ligadura.

## **Materiais e Métodos**

### **Animais**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras, sob Protocolo 002/15. Os animais foram mantidos nas condições estabelecidas pelo *Guide to the Care and Use of Experimental Animals* (1993).<sup>14</sup> Quarenta ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério Multiusuário da Universidade Federal de Lavras (UFLA) foram utilizados. Foram selecionados animais saudáveis com peso inicial de, aproximadamente,  $230.8 \pm 22.8$ g. Os ratos foram distribuídos, aleatoriamente, em esquema fatorial 2x2x2 (diabéticos ou não, induzidos à doença periodontal ou não, submetidos a treinamento físico ou não), com cinco repetições por tratamento (Tabela 1). Durante todo o período experimental os animais foram acomodados em caixas coletivas de polipropileno nas dimensões: 41 x 34 x 17.5 cm, contendo maravalha. Inicialmente os animais foram submetidos a sete dias de aclimação à sala de experimentação e à equipe. Durante todo o período experimental, os roedores permaneceram em condições ideais de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade

(45 ± 15%), e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12/12 horas). Ração e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental.

**Tabela 1:** Distribuição dos grupos experimentais

<b>Grupos experimentais</b>	<b>N</b>
Grupo 1 – animais normais, não treinados.	5
Grupo 2 – animais com DM, não treinados.	5
Grupo 3 – animais com DP, não treinados.	5
Grupo 4 – animais com DM e DP, não treinados.	5
Grupo 5 – animais normais, treinados.	5
Grupo 6 – animais com DM, treinados.	5
Grupo 7 – animais com DP, treinados.	5
Grupo 8 – animais com DM e DP, treinados.	5

DM – Diabetes *Mellitus* induzida por dieta hiperlipídica e injeção intraperitoneal de estreptozotocina (35 mg/kg). DP – Doença Periodontal induzida por ligadura no primeiro molar mandibular.

### **Indução do DM**

O DM foi induzido de acordo com protocolo descrito por Wang et al.<sup>15</sup> Este modelo de indução foi utilizado devido ao fato de mimetizar estágios avançados de DM tipo 2 em humanos.<sup>15,17</sup> Desta forma, após a distribuição dos animais em seus respectivos grupos, foi fornecida ração hiperlipídica – HFD - (25% de gordura, 48% carboidratos e 20% de proteínas), durante quatro semanas, aos animais que seriam induzidos ao DM. Ao final destes 28 dias, foi administrada, via intraperitoneal, uma baixa dose de estreptozotocina (35 mg/kg

de peso corporal) dissolvida em tampão citrato (pH = 4,5). A glicemia dos animais foi mensurada 48 horas após a injeção e foram considerados diabéticos os ratos com glicemia superior a 200 mg/dl de sangue.<sup>15</sup> Os roedores dos grupos que não foram induzidos ao DM receberam ração comercial (28% de proteínas, 60% de carboidratos e 12% de gordura) e foi administrada apenas uma solução de tampão citrato via intraperitoneal. Tanto os animais com DM quanto os não diabéticos continuaram com suas respectivas dietas até o final do período experimental.

### **Protocolo de treinamento**

Após o período mencionado, os animais dos grupos 5, 6, 7 e 8 foram submetidos à aclimação ao meio aquático. Nesta fase, estes roedores permaneceram duas horas diárias, durante sete dias, em um tanque de polietileno com capacidade total de 500 litros, contendo água na profundidade de cinco centímetros (de forma que o animal permanecesse com as patas no fundo do tanque, sem nadar), a uma temperatura de aproximadamente  $32 \pm 2$  °C. O objetivo desta ambientação foi adaptar o animal ao ambiente aquático de forma a reduzir seu estresse, sem causar adaptação ao treinamento físico.<sup>18</sup>

Na semana seguinte, os ratos foram submetidos ao protocolo progressivo de treinamento (com água em profundidade superior a 50 cm), iniciando em 10

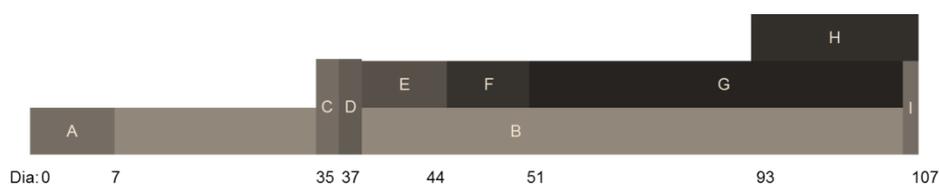
minutos de natação, com acréscimo diário de mais 10 minutos até que cada animal desempenhasse 60 minutos de exercício ininterruptos sem carga.<sup>19,20</sup>

Durante as oito semanas subsequentes os animais nadaram diariamente por 60 minutos, na frequência de cinco vezes por semana, com uma sobrecarga relativa a 5% de seu peso corporal.<sup>21</sup> A utilização da carga foi com intuito promover aumento na capacidade *endurance* destes animais.<sup>19</sup> Depois de cada sessão de treinamento, os animais eram secos com toalhas absorventes e, depois colocados de volta em suas respectivas caixas, como proposto pela American Physiological Society.<sup>22</sup>

### **Indução de DP**

A DP foi induzida faltando 14 dias para o final do experimento, através de protocolo de ligadura em ambos primeiros molares mandibulares conforme descrito por Messoria et al.<sup>23</sup> Para tal, os animais foram anestesiados com injeção intramuscular de 13 mg/kg de cloridrato de xilazina 10% com 80 mg/kg de cetamina base.<sup>23</sup> Assim, depois de anestesiados os animais foram colocados em uma mesa de operação contendo um aparato para mantê-los com a boca aberta durante todo o procedimento, facilitando, assim, o acesso ao primeiro molar inferior. Um fio de algodão foi, então, colocado em volta do primeiro molar de cada hemimandíbula do animal.<sup>23</sup> Este procedimento foi realizado com um intervalo mínimo de 24 horas após a sessão de exercício para o caso dos animais

em treinamento físico. Além disso, estes animais retornaram à rotina de treinamento somente 24 horas depois da indução da DP. Após 14 dias com a ligadura, os animais de todos os grupos foram eutanasiados. A figura 1 apresenta as etapas do experimento *in vivo*.



**Figura 1:** Fluxograma das etapas realizadas durante o período experimental. A – Período de ambientação. B – Período de consumo de dieta hiperlipídica pelos animais diabéticos e ração comercial pelos ratos não diabéticos. C – Injeção de streptozotocina (35 mg/Kg). D – Confirmação do DM (glicemia superior a 200 mg/dl). E- Ambientação ao meio aquático onde os ratos permaneceram duas horas por dia, por 7 dias, em um tanque com água a cinco centímetros de profundidade. F - Período de ambientação ao exercício. Natação em água a 50 centímetros de profundidade, 10 minutos no primeiro dia, com incremento de 10 minutos diários até que os ratos nadem 60 minutos ininterruptos. G – Período de treinamento. Natação durante 60 minutos por dia, cinco dias por semana com carga relativa a 5% do peso corporal acoplada ao tórax dos animais. H – Indução de doença periodontal. Permanência da ligadura no primeiro molar mandibular. I – Final do experimento. Coleta de sangue, gengivas e mandíbula. Eutanásia de todos os animais.

### Eutanásia e coleta de material biológico

Ao final do período experimental os animais foram submetidos a jejum de oito horas e eutanasiados por punção cardíaca sob anestesia (Tiopental Sódico 50 mg/kg i.p.). Uma alíquota de sangue foi coletada e utilizada para análise de hemoglobina glicada (HbA1c) através de kit comercial (Labtest Diagnostica<sup>®</sup>, Belo Horizonte, Brazil). Em seguida, outra alíquota de sangue foi centrifugada e o sobrenadante coletado e armazenado (-20 °C) para posterior

análise dos parâmetros bioquímicos sanguíneos (glicose, triacilgliceróis (TAG), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e colesterol total) utilizando kits comerciais específicos (Gold Analisa Diagnósticos<sup>®</sup>, Belo Horizonte, Brazil) conforme descrito por Amr e Abeer.<sup>24</sup> Os níveis das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) foram obtidos através da equação de Friedewald: Colesterol LDL-C = Colesterol Total – HDL-C - (TAG/5).<sup>25</sup>

#### **Avaliação da Perda Óssea Alveolar**

Após a retirada do tecido mole, as hemimandíbulas do lado direito foram submersas em peróxido de hidrogênio durante 24 horas, e então foram limpas, secas e coradas com azul de metileno 1% conforme realizado por Silva et al.<sup>26</sup> Posteriormente, as mandíbulas foram posicionadas de forma que a sobreposição das cúspides vestibular e lingual não possibilitasse a visualização da superfície oclusal, e então foram fotografadas utilizando stereomicroscópio (Leica M205A; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Nas imagens capturadas foram realizadas medições lineares entre a junção cimento-esmalte da face vestibular utilizando o *software* Image J (Bethesda, MD, USA), conforme descrito por Silva et al.<sup>26</sup> A POA foi avaliada de forma cega por um examinador treinado. A média de três medidas de cada animal, uma de cada raiz do primeiro molar, foi utilizada para expressar a POA.

### **Análises Estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas por teste F a 5%. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.3.<sup>27</sup> Os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

### **Resultados**

Tanto a glicemia quanto a HbA1c apresentaram valores superiores nos animais diabéticos em relação aos não diabéticos ( $p < 0,05$ ). Nos animais não diabéticos com DP foi observado aumento nos níveis de HbA1c e glicose em relação a seus congêneres ( $p < 0,05$ ), sendo que o treinamento diminuiu a glicemia destes animais ( $p < 0,05$ ). O treinamento físico diminuiu a glicemia e a HbA1c nos animais diabéticos com e sem DP em relação aos respectivos grupos não treinados ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2:** Perfil glicêmico de ratos diabéticos tipo 2 (HFD/STZ) com doença periodontal induzida por ligadura, submetidos a oito semanas de treinamento físico.

DIABETES	DOENÇA PERIODONTAL	TREINAMENTO FÍSICO	
		Sem	Com
<b><i>HbA1c (mg/dL)</i></b>			
Sem *	Sem	2.66 (0.20)a	2.70 (0.16)
	Com	3.18 (0.29)b	2.74 (0.23)
Com	Sem	9.34 (0.35)x	8.86 (0.15)y
	Com	9.70 (0.28)x	9.06 (0.26)y
<b><i>Glicose (mg/dL)</i></b>			
Sem *	Sem	98.95 (2.08)a	115.02 (5.03)
	Com	121.91 (5.68)bx	102.91 (7.70)y
Com	Sem	225.30 (11.21)x	202.24 (7.08)y
	Com	240.38 (13.97)x	209.83 (15.03)y

\* Diferença entre grupos com e sem diabetes pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Diferentes letras nas colunas indicam diferenças entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste F -  $p < 0,05$ ).

<sup>x,y</sup> Diferentes letras nas linhas indicam diferenças entre os grupos com e sem exercício (teste F -  $p < 0,05$ ).

O treinamento físico promoveu diminuição nos níveis de TAG nos animais diabéticos com e sem DP ( $p < 0,05$ ). As concentrações de colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C não diferiram entre os grupos (Tabela 3).

**Tabela 3:** Concentrações de triacilgliceróis, colesterol total e frações em ratos diabéticos e com doença periodontal submetidos a treinamento físico.

DIABETES	Doença Periodontal	Treinamento Físico	
		Sem	Com
<b><i>Triacilgliceróis (mg/dL)</i></b>			
Sem	Sem	100.35 (17.84)	94.79 (16.58)
	Com	110.16 (5.51)	100.53 (9.83)
Com	Sem	108.63 (10.97) <sup>x</sup>	90.54 (7.33) <sup>y</sup>
	Com	116.78 (11.59) <sup>x</sup>	96.24 (5.10) <sup>y</sup>
<b><i>Colesterol Total (mg/dL)</i></b>			
Sem	Sem	87.94 (11.27)	79.95 (12.08)
	Com	95.15 (8.56)	80.50 (8.61)
Com	Sem	85.55 (14.04)	81.42 (8.56)
	Com	88.33 (6.54)	82.28 (10.82)
<b><i>HDL-C (mg/dL)</i></b>			
Sem	Sem	34.52 (4.00)	37.70 (2.43)
	Com	39.06 (1.49)	36.29 (3.39)
Com	Sem	36.84 (4.89)	31.73 (5.58)
	Com	33.09 (2.63)	37.93 (4.52)
<b><i>LDL-C (mg/dL)</i></b>			
Sem	Sem	33.30 (8.36)	22.25 (5.57)
	Com	36.45 (4.19)	26.50 (5.83)
Com	Sem	28.95 (11.39)	28.73 (8.47)
	Com	32.38 (10.45)	23.09 (10.23)
<b><i>VDL-C (mg/dL)</i></b>			
Sem	Sem	20.11 (3.60)	19.99 (4.08)
	Com	21.43 (2.46)	17.70 (3.53)
Com	Sem	19.75 (2.65)	20.95 (3.04)
	Com	22.64 (2.80)	21.24 (5.00)

\* Diferença entre grupos com e sem diabetes pelo teste F ( $p < 0,05$ ). <sup>a,b</sup> Diferentes letras nas colunas indicam diferenças entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste F -  $p < 0,05$ ). <sup>x,y</sup> Diferentes letras nas linhas indicam diferenças entre os grupos com e sem exercício (teste F -  $p < 0,05$ ).

A POA foi maior nos animais não treinados que foram induzidos à DP assim como nos diabéticos quando comparados aos animais sem DP e sem DM ( $p < 0,05$ ). Nos animais diabéticos não treinados, a POA foi maior em relação aos animais que não foram submetidos à ligadura ( $p < 0,05$ ). Os animais submetidos ao treinamento apresentaram menor POA quando comparados aos não treinados diabéticos, com DP, assim como naqueles que tinham ambas as doenças ( $p < 0,05$  – Tabela 4 – Figura 2).

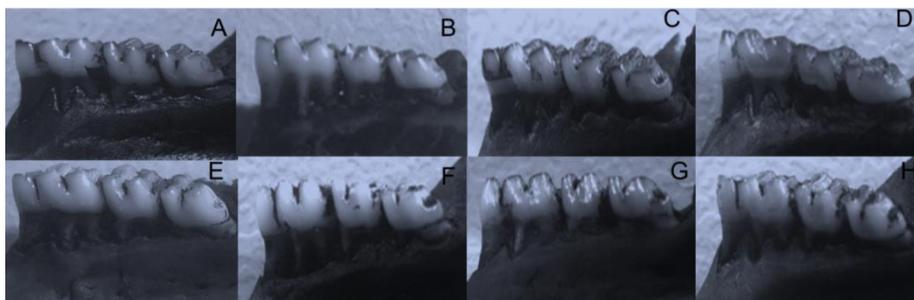
**Tabela 4:** Perda óssea alveolar de ratos diabéticos e com doença periodontal submetidos a treinamento físico.

DIABETES	Doença Periodontal	Treinamento Físico	
		Sem	Com
<b>POA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
Sem	Sem	0.90 (0.04)Aa	0.94 (0.10)
	Com	1.13 (0.09)bx	1.02 (0.10)y
Com	Sem	1.03 (0.04)Bax	0.88 (0.05)ay
	Com	1.29 (0.06)bx	1.06 (0.08)by

<sup>A,B</sup> Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças entre os com e sem diabetes (Teste F -  $p < 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Diferentes letras nas colunas indicam diferenças entre os grupos com e sem doença periodontal (Teste F -  $p < 0,05$ ).

<sup>x,y</sup> Diferentes letras nas linhas indicam diferenças entre os grupos com e sem exercício (teste F -  $p < 0,05$ ).



**Figura 2:** Representação da Perda Óssea Alveolar (POA) em ratos distribuídos nos seguintes grupos: A – animais não treinados. B– animais com doença periodontal. C – animais treinados. D – animais treinados e com doença periodontal. E – animais com diabetes tipo 2. F – animais com diabetes tipo 2 e doença periodontal. G – animais diabéticos tipo 2, treinados. H – animais diabéticos tipo 2 com doença periodontal e treinados.

## Discussão

Os resultados mais relevantes observados no presente estudo foram a melhoria do perfil glicêmico e a menor POA nos animais submetidos ao treinamento. Adicionalmente, observou-se que apenas a presença do DM foi suficiente para aumentar a POA mesmo nos animais não submetidos à ligadura. Além disso, a presença da DP promoveu aumento tanto na glicemia quanto nos níveis de HbA1c nos animais que não foram induzidos ao DM. Estes resultados confirmam a já conhecida relação bidirecional entre o DM e a DP.<sup>28</sup>

A piora da DP frente ao DM, dentre outros fatores, pode ocorrer devido ao aumento nos níveis de produtos finais da glicação avançada (AGE's), frequentemente observados em pacientes com controle glicêmico empobrecido.<sup>29,30</sup> Tal fato prejudica o remodelamento ósseo e promove aumento de citocinas pró-inflamatórias locais, especialmente TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$ , acelerando

assim a destruição dos tecidos periodontais.<sup>29,30</sup> Já a piora no controle glicêmico observado em indivíduos com DP acontece pelo fato de que, assim como em outras infecções, ocorre aumento na resistência à ação da insulina.<sup>31</sup> Nesse sentido, o aumento em citocinas pró-inflamatórias, oriundas da DP (como a TNF- $\alpha$ ), suprime a ação da insulina por impedir a ligação deste hormônio em seu receptor.<sup>32</sup> Isto acontece, pois o TNF- $\alpha$  pode estimular a fosforilação de resíduos de serina do receptor de insulina, prejudicando sua capacidade de transdução e conseqüente ativação da cascata intracelular que promove expressão no GLUT-4.<sup>33</sup> Adicionalmente, a diminuição nos níveis de IL-10, frequentemente observada em pacientes com DP,<sup>34,35</sup> também está associada ao aumento na resistência à insulina.<sup>33</sup>

A melhoria na glicemia e HbA1c, frente ao exercício, é um resultado habitualmente relatado.<sup>36,37</sup> O exercício físico é uma das estratégias não medicamentosas mais preconizadas para o controle glicêmico em indivíduos com DM,<sup>38</sup> sendo que os mecanismos envolvidos nesta melhoria estão relacionados ao aumento da captação de glicose durante e após o exercício, principalmente pelo tecido muscular, bem como à diminuição na resistência à insulina pelos adipócitos.<sup>39,40</sup> No indivíduo diabético, tanto o exercício agudo quanto o crônico favorece a captação e utilização da glicose circulante, gerando benefícios tanto no diabetes tipo 1 quanto no tipo 2.<sup>41</sup> Além disso, o aumento na captação de lipídeos circulantes, como os TAG's, diminui a resistência à

insulina.<sup>42</sup> Tal fato foi observado no presente estudo, onde os animais diabéticos que realizaram treinamento apresentaram menores concentrações de TAG quando comparados aos não treinados que tinham DM.

Além disso, a melhoria controle glicêmico em indivíduos diabéticos pode atenuar a progressão da perda óssea observada na DP.<sup>43</sup> Tal fato foi observado no presente estudo, onde a POA foi menor nos animais diabéticos que foram submetidos ao treinamento, acompanhando a diminuição nos níveis glicêmicos e de HbA1c nestes mesmos grupos. Entretanto, outros fatores podem estar envolvidos na atenuação da POA nos animais treinados, já que esta melhoria também foi observada nos animais não diabéticos com DP. Tais fatores possivelmente estão associados à melhora do perfil inflamatório<sup>44</sup> e a redução do estresse oxidativo proveniente da atividade física regular em intensidade moderada.<sup>45</sup> Adicionalmente, em estudo prévio do nosso grupo de pesquisa (dados ainda não publicados), foi observado que o treinamento físico promoveu aumento nos níveis da IL-10 (citocina com ação anti-inflamatória) e diminuição na TNF- $\alpha$  gengival em ratos com DP.

### **Conclusão**

O treinamento físico atenuou a progressão da PD e melhorou o perfil glicêmico tanto em animais diabéticos quanto em não diabéticos. Desta forma, a

prática de exercícios deve ser encorajada para pacientes enquadrados em grupos de risco para o desenvolvimento de DM e DP.

## Referências

1. Seino Y, Nanjo K, Tajima N, Kadowaki T, Kashiwagi A, Araki E, et al. Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes *mellitus*. J Diabetes Investig [Internet]. 2010 Oct 19 [cited 2014 Sep 4];1(5):212–28. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4020724&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
2. Fazeli Farsani S, van der Aa MP, van der Vorst MMJ, Knibbe CAJ, de Boer A. Global trends in the incidence and prevalence of type 2 diabetes in children and adolescents: a systematic review and evaluation of methodological approaches. Diabetologia [Internet]. 2013 Jul [cited 2014 Oct 12];56(7):1471–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23677041>
3. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes *mellitus*--present and future perspectives. Nat Rev Endocrinol [Internet]. Nature Publishing Group; 2012 Apr 8 [cited 2015 Jun 22];8(4):228–36. Available from: <http://www.nature.com/nrendo/journal/v8/n4/full/nrendo.2011.183.html#B1>
4. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. Physiol Rev [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2015 Feb 21];93(1):137–88. Available from: <http://physrev.physiology.org/content/93/1/137>
5. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. Periodontol 2000 [Internet]. 2014 Feb [cited 2016 Jan 5];64(1):57–80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4500791&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

6. Al-Maskari AY, Al-Maskari MY, Al-Sudairy S. Oral Manifestations and Complications of Diabetes *Mellitus*: A review. Sultan Qaboos Univ Med J [Internet]. 2011 May [cited 2014 Nov 3];11(2):179–86. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3121021&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
7. Koromantzos PA, Makrilakis K, Dereka X, Katsilambros N, Vrotsos IA, Madianos PN. A randomized, controlled trial on the effect of non-surgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes. Part I: effect on periodontal status and glycaemic control. J Clin Periodontol [Internet]. 2011 Feb [cited 2014 Nov 3];38(2):142–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21114680>
8. Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Izumi Y, Kanazawa M, Matsuo A, et al. Effect of glycemic control on periodontitis in type 2 diabetic patients with periodontal disease. J Diabetes Investig [Internet]. 2013 May [cited 2014 Nov 3];4(3):320–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3752968&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
9. Ajita M, Karan P, Vivek G, S MA, Anuj M. Periodontal disease and type 1 diabetes *mellitus*: associations with glycemic control and complications: an Indian perspective. Diabetes Metab Syndr [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Nov 5];7(2):61–3. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871402113000362>
10. Bawadi HA, Khader YS, Haroun TF, Al-Omari M, Tayyem RF. The association between periodontal disease, physical activity and healthy diet among adults in Jordan. J Periodontal Res [Internet]. 2011 Feb [cited 2015 Jan 21];46(1):74–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20860591>
11. Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. Clin Chim Acta [Internet]. 2010 Jun 3 [cited 2014 Nov 5];411(11-12):785–93. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3629815&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
12. Sanders AE, Slade GD, Fitzsimmons TR, Bartold PM. Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. J

- Clin Periodontol [Internet]. 2009 May [cited 2014 Nov 5];36(5):388–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19419437>
13. Van Dijk J-W, van Loon LJC. Exercise strategies to optimize glycemic control in type 2 diabetes: a continuing glucose monitoring perspective. *Diabetes Spectr* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2016 Feb 20];28(1):24–31. Available from: <http://spectrum.diabetesjournals.org/content/28/1/24.short>
  14. Canadian Council on Animal Care. Guide to the care and use of experimental animals [Internet]. onstitution Square, Tower 2, Suite 315, 350 Albert Street, Ottawa, ON K1R 1B1, Canada. 1993 [cited 2016 Feb 5]. Available from: [http://www.aaalac.org/accreditation/RefResources/CCAC\\_Experimental\\_Animals\\_Vol1.pdf](http://www.aaalac.org/accreditation/RefResources/CCAC_Experimental_Animals_Vol1.pdf)
  15. Wang L, Duan G, Lu Y, Pang S, Huang X, Jiang Q, et al. The effect of simvastatin on glucose homeostasis in streptozotocin induced type 2 diabetic rats. *J Diabetes Res* [Internet]. 2013 Jan [cited 2015 Jan 27];2013:274986. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3647597&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  16. Chang H-C, Huang C-N, Yeh D-M, Wang S-J, Peng C-H, Wang C-J. Oat prevents obesity and abdominal fat distribution, and improves liver function in humans. *Plant Foods Hum Nutr* [Internet]. 2013 Mar [cited 2014 Oct 25];68(1):18–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23371785>
  17. Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2014 Jul [cited 2016 Feb 7];5(4):349–58. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4210077&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  18. Rambo LM, Ribeiro LR, Oliveira MS, Furian AF, Lima FD, Souza MA, et al. Additive anticonvulsant effects of creatine supplementation and physical exercise against pentylenetetrazol-induced seizures. *Neurochem Int* [Internet]. 2009 Sep [cited 2014 Apr 16];55(5):333–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19393274>

19. Gobatto CA, de Mello MA, Sibuya CY, de Azevedo JR, dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* [Internet]. 2001 Aug;130(1):21–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11672680>
20. Lima FD, Oliveira MS, Furian AF, Souza MA, Rambo LM, Ribeiro LR, et al. Adaptation to oxidative challenge induced by chronic physical exercise prevents Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity inhibition after traumatic brain injury. *Brain Res* [Internet]. Elsevier B.V.; 2009 Jul 7 [cited 2014 Apr 16];1279:147–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19422810>
21. Andrade EF, Lobato RV, Araújo TV, Orlando DR, Gomes NF, Alvarenga RR, et al. Metabolic effects of glycerol supplementation and aerobic physical training on Wistar rats. *Can J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2014 Sep [cited 2014 Sep 24];92(9):744–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25105723>
22. American Physiological Society (APS). Exercise protocols using rats and mice. In: *Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols* [Internet]. 1st ed. Washington: National Academy Press; 2006. p. 152. Available from: <http://www.the-aps.org/mm/SciencePolicy/AnimalResearch/Publications/Animal-Exercise-Protocols/book14824.pdf>
23. Messoro MR, Oliveira LFF, Foureaux RC, Taba M, Zangeronimo MG, Furlaneto F a C, et al. Probiotic therapy reduces periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis. *J Periodontol* [Internet]. 2013 Dec [cited 2014 Mar 22];84(12):1818–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23327675>
24. Amr AR, Abeer EE-K. Hypolipideimic and Hypocholestermic Effect of Pine Nuts in Rats Fed High Fat , Cholesterol-Diet. *World Appl Sci J* [Internet]. 2011;15(12):1667–77. Available from: [http://idosi.org/wasj/wasj15\(12\)11/4.pdf](http://idosi.org/wasj/wasj15(12)11/4.pdf)
25. Fukuyama N, Homma K, Wakana N, Kudo K, Suyama A, Ohazama H, et al. Validation of the Friedewald Equation for Evaluation of Plasma LDL-Cholesterol. *J Clin Biochem Nutr* [Internet]. 2008 Jul [cited 2016 Apr

- 22];43(1):1–5. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2459246&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
26. Silva V de O, Lobato RV, Andrade EF, de Macedo CG, Napimoga JTC, Napimoga MH, et al.  $\beta$ -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) Reduce Glucose Levels and Attenuate Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats with Periodontal Disease. *PLoS One* [Internet]. 2015 Jan [cited 2015 Oct 18];10(8):e0134742. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4546386&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
27. Ferreira DF. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* [Internet]. Editora UFLA; 2011 [cited 2016 Feb 5];35(6):1039–42. Available from:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542011000600001&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000600001&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
28. Grover HS, Luthra S. Molecular mechanisms involved in the bidirectional relationship between diabetes *mellitus* and periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol* [Internet]. 2013 May [cited 2016 Feb 29];17(3):292–301. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3768178&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
29. Mealey BL. Periodontal disease and diabetes. A two-way street. *J Am Dent Assoc* [Internet]. 2006 Oct [cited 2016 Feb 16];137(10 Supl):26S – 31S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17012733>
30. Bascones-Martinez A, Matesanz-Perez P, Escribano-Bermejo M, González-Moles M-Á, Bascones-Ilundain J, Meurman J-H. Periodontal disease and diabetes-Review of the Literature. *Med oral, Patol oral y cirugía bucal* [Internet]. 2011 Sep [cited 2016 Feb 16];16(6):e722–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21196866>
31. Llambés F, Arias-Herrera S, Caffesse R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World J Diabetes* [Internet]. 2015 Jul 10 [cited 2016 Feb 16];6(7):927–35. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4499526&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

32. Nishimura F, Iwamoto Y, Mineshiba J, Shimizu A, Soga Y, Murayama Y. Periodontal disease and diabetes *mellitus*: the role of tumor necrosis factor-alpha in a 2-way relationship. *J Periodontol* [Internet]. American Academy of Periodontology 737 N. Michigan Avenue, Suite 800 Chicago, IL 60611-2690 USA; 2003 Jan 11 [cited 2016 Feb 3];74(1):97–102. Available from: <http://www.joponline.org/doi/abs/10.1902/jop.2003.74.1.97>
33. De Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* [Internet]. 2008 Jan 9 [cited 2016 Jan 22];582(1):97–105. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2246086&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
34. Archana A, Sasireka S, Prabhu M., Bobby B, Srikanth V. Correlation between Circulatory and Salivary IL 10 Levels in Periodontal Health and Disease – A Report. *Int J Dent Sci Res* [Internet]. Science and Education Publishing; 2014 Aug 15 [cited 2016 Feb 19];2(4B):7–10. Available from: <http://pubs.sciepub.com/ijdsr/2/4B/3/index.html>
35. Ebersole JL, Kirakodu S, Novak MJ, Stromberg AJ, Shen S, Orraca L, et al. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2014 Sep [cited 2016 Feb 19];41(9):853–61. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4151164&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
36. Schein A, Correa A, Casali KR, Schaan BD. Are glucose levels, glucose variability and autonomic control influenced by inspiratory muscle exercise in patients with type 2 diabetes? Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* [Internet]. BioMed Central; 2016 Jan 20 [cited 2016 Feb 9];17(1):38. Available from: <http://trialsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13063-016-1156-0>
37. Tunkamnerdthai O, Auvichayapat P, Donsom M, Leelayuwat N. Improvement of pulmonary function with arm swing exercise in patients with type 2 diabetes. *J Phys Ther Sci* [Internet]. 2015 Mar [cited 2016 Feb 29];27(3):649–54. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4395684&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

38. Blonde L. Current antihyperglycemic treatment guidelines and algorithms for patients with type 2 diabetes *mellitus*. *Am J Med* [Internet]. 2010 Mar [cited 2016 Jan 8];123(3 Suppl):S12–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002934309010766>
39. Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes *mellitus*. *N Engl J Med* [Internet]. 1999 Jul 22 [cited 2015 Nov 19];341(4):248–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10413738>
40. Thompson D, Karpe F, Lafontan M, Frayn K. Physical activity and exercise in the regulation of human adipose tissue physiology. *Physiol Rev* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2016 Jan 2];92(1):157–91. Available from: <http://physrev.physiology.org/content/92/1/157.short>
41. Liese AD, Ma X, Maahs DM, Trilk JL. Physical activity, sedentary behaviors, physical fitness, and their relation to health outcomes in youth with type 1 and type 2 diabetes: A review of the epidemiologic literature. *J Sport Heal Sci* [Internet]. 2013 Mar [cited 2015 Dec 9];2(1):21–38. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095254612000828>
42. Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Olza J, Aguilera CM, Gil Á, Ruiz JR. Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. *Ann Nutr Metab* [Internet]. Karger Publishers; 2015 Jul 25 [cited 2015 Aug 5];67(1):21–32. Available from: <http://www.karger.com/Article/FullText/437173>
43. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br Dent J* [Internet]. 2014 Oct 24 [cited 2016 Jan 6];217(8):433–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25342350>
44. Ambarish V, Chandrashekhara S, Suresh KP. Moderate regular exercises reduce inflammatory response for physical stress. *Indian J Physiol Pharmacol* [Internet]. Jan [cited 2016 Feb 29];56(1):7–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23029958>
45. Vinetti G, Mozzini C, Desenzani P, Boni E, Bulla L, Lorenzetti I, et al. Supervised exercise training reduces oxidative stress and cardiometabolic

risk in adults with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Sci Rep* [Internet]. Nature Publishing Group; 2015 Jan 18 [cited 2016 Feb 29];5:9238. Available from: <http://www.nature.com/srep/2015/150318/srep09238/full/srep09238.html>



## CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados observados no presente estudo demonstram que treinamento físico atenua a progressão a perda óssea em ratos com DP, diabéticos ou não, além de melhorar o perfil glicêmico nos animais diabéticos com e sem DP. Outro efeito interessante observado foi o aumento no comportamento ansioso/depressivo nos animais com DP, sendo que o treinamento melhorou estes parâmetros. Tais resultados possivelmente ocorreram devido à melhoria no perfil inflamatório observado no presente estudo, onde houve aumento em mediadores anti-inflamatórios (como a IL-10) e diminuição nos pro-inflamatórios (como a TNF- $\alpha$  e relação TNF- $\alpha$ /IL-10).

Estes resultados permitem reafirmar os efeitos benéficos do exercício físico sobre o metabolismo e sistema imunológico. Ademais, a partir destes achados, pode-se inferir que a atividade física seja ainda mais estimulada por profissionais da saúde, principalmente para indivíduos pertencentes aos grupos de risco no desenvolvimento de formas graves de DP.



## ANEXO A - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS  
Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

### CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº 002/15, relativo ao projeto intitulado Efeitos do treinamento físico sobre o metabolismo e expressão gênica de parâmetros inflamatórios em ratos diabéticos com doença periodontal, que tem como responsável Luciano José Pereira está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Comissões Permanentes/PRP-UFLA), tendo sido aprovado na reunião de 14/04/2015.

Início do projeto:01/05/2015 - Término do projeto:01/03/2017.  
Espécie: Rato - Quantidade de animais: 80.

### CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº 002/15, related to the project entitled "Effects of physical training on the metabolism and gene expression of inflammatory parameters in rats with diabetic periodontal disease", under the supervision of Luciano José Pereira, is in agreement with the Ethics Principles in Animal Experimentation, adopted by the Institutional Animal Care and Use Committee (Standing Committees/PRP-UFLA), and was approved in April 14, 2015.

Project's beginning:01/05/2015 - Project's end:01/03/2017.  
Species: Rato - Number of animals: 80.

Lavras, 14 de abril de 2015

  
 Prof. Gabriela Rodrigues Sampaio  
 Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras  
 Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes  
 Campus Universitário -  
 Caixa Postal 3037 / CEP 37200-000 - Lavras, MG - Brasil  
 Tel. +55 (35) 3829 5182  
 cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

## ANEXO B - TABELAS

Tabela 1 Análise de variância para perda óssea alveolar, avaliada por histomorfometria, em ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	1831203.498744	1831203.498744	77.098	0.0000
EXERC	1	133630.415678	133630.415678	5.626	0.0306
DPERIO*EXERC	1	10725.876880	10725.876880	0.452	0.5112
erro	16	380028.130810	23751.758176		
Total corrigido	19	2355587.922113			
CV (%) =	16.13				
Média geral:	955.6278640	Número de observações:		20	

Tabela 2 Análise de variância para perda de junção epitelial em ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	1389290.122909	1389290.122909	343.118	0.0000
EXERC	1	74593.340820	74593.340820	18.423	0.0006
DPERIO*EXERC	1	38777.749517	38777.749517	9.577	0.0070
erro	16	64784.324030	4049.020252		
Total corrigido	19	1567445.537276			
CV (%) =	17.53				
Média geral:	363.0770000	Número de observações:		20	

Tabela 3 Análise de variância para comprimento de ramificações de astrócitos do hipocampo em ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	0.059894	0.059894	0.023	0.8814
EXERC	1	44.944937	44.944937	17.239	0.0008
DPERIO*EXERC	1	2.610869	2.610869	1.001	0.3319
erro	16	41.714026	2.607127		
Total corrigido	19	89.329727			
CV (%) =	8.18				
Média geral:	19.7446240	Número de observações:		20	

Tabela 4 Análise de variância para expressão de IL1- $\beta$  na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	0.008687	0.008687	0.711	0.4236
EXERC	1	0.012600	0.012600	1.031	0.3396
DPERIO*EXERC	1	0.014491	0.014491	1.186	0.3078
erro	8	0.097736	0.012217		
Total corrigido	11	0.133513			
CV (%) =	19.85				
Média geral:	0.5567117	Número de observações:	12		

Tabela 5 Análise de variância para expressão de IL-10 na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	0.000071	0.000071	0.002	0.9640
EXERC	1	0.201036	0.201036	6.112	0.0386
DPERIO*EXERC	1	0.068757	0.068757	2.090	0.1862
erro	8	0.263137	0.032892		
Total corrigido	11	0.533001			
CV (%) =	27.07				
Média geral:	0.6700033	Número de observações:	12		

Tabela 6 Análise de variância para expressão de TNF- $\alpha$  na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	0.008659	0.008659	0.880	0.3757
EXERC	1	0.096198	0.096198	9.775	0.0141
DPERIO*EXERC	1	0.021234	0.021234	2.158	0.1801
erro	8	0.078730	0.009841		
Total corrigido	11	0.204821			
CV (%) =	18.34				
Média geral:	0.5410317	Número de observações:	12		

Tabela 7 Análise de variância para relação TNF- $\alpha$ /IL-10 na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	0.057139	0.057139	0.158	0.7011
EXERC	1	1.751967	1.751967	4.854	0.0587
DPERIO*EXERC	1	0.430419	0.430419	1.192	0.3066
erro	8	2.887658	0.360957		
Total corrigido	11	5.127182			
CV (%) =	60.12				
Média geral:	0.9993242	Número de observações:	12		

Tabela 8 Análise de variância para relação IL1- $\beta$ /IL-10 na gengiva de ratos com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DPERIO	1	0.428508	0.428508	1.269	0.2926
EXERC	1	0.427489	0.427489	1.266	0.2932
DPERIO*EXERC	1	0.093704	0.093704	0.277	0.6127
erro	8	2.701621	0.337703		
Total corrigido	11	3.651322			
CV (%) =	52.69				
Média geral:	1.1029383	Número de observações:	12		

Tabela 9 Análise de variância para hemoglobina glicada de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	412.099802	412.099802	3094.568	0.0000
DPERIO	1	0.786802	0.786802	5.908	0.0209
EXERC	1	1.432622	1.432622	10.758	0.0025
DIABETES*DPERIO	1	0.000022	0.000022	0.000	0.9897
DIABETES*EXERC	1	0.325802	0.325802	2.447	0.1276
DPERIO*EXERC	1	0.254403	0.254403	1.910	0.1765
DIABETES*DPERIO*EXER	1	0.061623	0.061623	0.463	0.5012
erro	32	4.261400	0.133169		
Total corrigido	39	419.222477			
CV (%) =	6.05				
Média geral:	6.0307500	Número de observações:	40		

Tabela 10 Análise de variância para glicemia de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	120142.558626	120142.558626	708.067	0.0000
DPERIO	1	681.133790	681.133790	4.014	0.0536
EXERC	1	1961.258242	1961.258242	11.559	0.0018
DIABETES*DPERIO	1	95.179716	95.179716	0.561	0.4593
DIABETES*EXERC	1	1639.604701	1639.604701	9.663	0.0039
DPERIO*EXERC	1	1160.453127	1160.453127	6.839	0.0135
DIABETES*DPERIO*EXER	1	493.637626	493.637626	2.909	0.0978
erro	32	5429.656648	169.676770		
Total corrigido	39	131603.482477			
CV (%) =	7.91				
Média geral:	164.6380575	Número de observações:	40		

Tabela 11 Análise de variância para triacilgliceróis de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	25.191959	25.191959	0.109	0.7437
DPERIO	1	540.326949	540.326949	2.332	0.1366
EXERC	1	1810.279968	1810.279968	7.813	0.0087
DIABETES*DPERIO	1	1.812396	1.812396	0.008	0.9301
DIABETES*EXERC	1	343.313555	343.313555	1.482	0.2324
DPERIO*EXERC	1	26.516426	26.516426	0.114	0.7373
DIABETES*DPERIO*EXER	1	1.598109	1.598109	0.007	0.9343
erro	32	7414.156074	231.692377		
Total corrigido	39	10163.195436			
CV (%) =	14.89				
Média geral:	102.2565697	Número de observações:	40		

Tabela 12 Análise de variância para colesterol total de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	10.699130	10.699130	0.058	0.8108
DPERIO	1	81.979944	81.979944	0.447	0.5088
EXERC	1	748.340395	748.340395	4.077	0.0519
DIABETES*DPERIO	1	10.154391	10.154391	0.055	0.8156
DIABETES*EXERC	1	70.898488	70.898488	0.386	0.5387
DPERIO*EXERC	1	91.063986	91.063986	0.496	0.4863
DIABETES*DPERIO*EXER	1	0.902672	0.902672	0.005	0.9445
erro	32	5874.196155	183.568630		
Total corrigido	39	6888.235162			
CV (%) =	15.87				
Média geral:	85.3673120	Número de observações:	40		

Tabela 13 Análise de variância para HDL de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	17.195982	17.195982	0.463	0.5012
DPERIO	1	3.575950	3.575950	0.096	0.7584
EXERC	1	11.482526	11.482526	0.309	0.5821
DIABETES*DPERIO	1	67.034207	67.034207	1.804	0.1887
DIABETES*EXERC	1	7.257259	7.257259	0.195	0.6615
DPERIO*EXERC	1	103.198960	103.198960	2.778	0.1054
DIABETES*DPERIO*EXER	1	0.372129	0.372129	0.010	0.9209
erro	32	1188.925376	37.153918		
Total corrigido	39	1399.042390			
CV (%) =	16.72				
Média geral:	36.4531107	Número de observações:	40		

Tabela 14 Análise de variância para LDL de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	8.414815	8.414815	0.058	0.8110
DPERIO	1	91.448119	91.448119	0.632	0.4325
EXERC	1	427.225510	427.225510	2.953	0.0954
DIABETES*DPERIO	1	6.976292	6.976292	0.048	0.8276
DIABETES*EXERC	1	60.230878	60.230878	0.416	0.5234
DPERIO*EXERC	1	36.943915	36.943915	0.255	0.6168
DIABETES*DPERIO*EXER	1	0.211455	0.211455	0.001	0.9697
erro	32	4630.238253	144.694945		
Total corrigido	39	5261.689237			
CV (%) =	42.33				
Média geral:	28.4163380	Número de observações:	40		

Tabela 15 Análise de variância para VLDL de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	14.263286	14.263286	0.759	0.3900
DPERIO	1	1.911150	1.911150	0.102	0.7518
EXERC	1	10.875445	10.875445	0.579	0.4523
DIABETES*DPERIO	1	5.567607	5.567607	0.296	0.5899
DIABETES*EXERC	1	11.243951	11.243951	0.599	0.4448
DPERIO*EXERC	1	29.835722	29.835722	1.588	0.2167
DIABETES*DPERIO*EXER	1	0.639862	0.639862	0.034	0.8547
erro	32	601.124823	18.785151		
Total corrigido	39	675.461846			
CV (%) =	21.14				
Média geral:	20.4978625	Número de observações:	40		

Tabela 16 Análise de variância para perda óssea alveolar (morfometria) de ratos diabéticos ou não com ou sem doença periodontal e submetidos ou não a treinamento físico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
DIABETES	1	0.049219	0.049219	3.775	0.0609
DPERIO	1	0.353068	0.353068	27.081	0.0000
EXERC	1	0.123659	0.123659	9.485	0.0042
DIABETES*DPERIO	1	0.008398	0.008398	0.644	0.4281
DIABETES*EXERC	1	0.065685	0.065685	5.038	0.0318
DPERIO*EXERC	1	0.034493	0.034493	2.646	0.1136
DIABETES*DPERIO*EXER	1	0.002988	0.002988	0.229	0.6354
erro	32	0.417204	0.013038		
Total corrigido	39	1.054712			
CV (%) =	11.00				
Média geral:	1.0376230	Número de observações:	40		