

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA
COORDENAÇÃO DE PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EFEITO DA INGESTÃO DE GLUTAMINA NA PROGRESSÃO DE PERIODONTITE INDUZIDA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.

AURÉLIO ROSA DA SILVA JUNIOR

CUIABÁ
2016

**EFEITO DA INGESTÃO DE GLUTAMINA NA PROGRESSÃO DE PERIODONTITE
INDUZIDA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

AURÉLIO ROSA DA SILVA JUNIOR

Orientador: Cervantes Caporossi

Coorientador: Alex Semenovff Segundo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde, área de concentração nutrição e metabolismo.

CUIABÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

R788e ROSA DA SILVA JUNIOR, AURÉLIO.
EFEITO DA INGESTÃO DE GLUTAMINA NA PROGRESSÃO DE
PERIODONTITE INDUZIDA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS. /
AURÉLIO ROSA DA SILVA JUNIOR. -- 2016
43 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: CERVANTES CAPOROSSI.
Co-orientador: ALEX SEMENOFF SEGUNDO.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de
Ciências Médicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Cuiabá, 2016.
Inclui bibliografia.

1. ODONTOLOGIA. 2. GLUTAMINA. 3. PERIODONTITE. 4. RATOS. I.
Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
Avenida Fernando Corrêa da Costa, 2367 - Boa Esperança - Cep: 78060900 - CUIABÁ/MT
Tel : 3615-8863 - Email : cpgfa@ufmt.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO : "EFEITO DA INGESTÃO DE GLUTAMINA NA PROGRESSÃO DE PERIODONTITE INDUZIDA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS."

AUTOR : Mestrando Aurelio Rosa da Silva Junior

Dissertação defendida e aprovada em 29/02/2016.

Composição da Banca Examinadora:

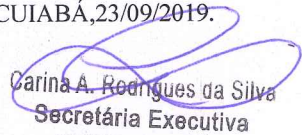
Presidente Banca / Orientador Doutor(a) Cervantes Caporossi
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Interno Doutor(a) Diana Borges Dock Nascimento
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Externo Doutor(a) Tereza Aparecida Delle Vedove Semenoff
Instituição : UNIC

Examinador Suplente Doutor(a) José Eduardo de Aguiar Siqueira do Nascimento
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

CUIABÁ, 23/09/2019.


Carina A. Rodrigues da Silva
Secretária Executiva
SIAPE: 1763934

Carina Rodrigues
Secretária da Pós-Graduação em Ciências da Saúde

AGRADECIMENTOS

À Deus por permitir ter chegado até aqui, iluminando e abençoando meus passos.

À minha família, em especial meus pais Aurélio e Elza por todo apoio e incentivo, e minhas irmãs Cibele e Samanta por toda ajuda prestada neste período.

À minha namorada, Andreia, pelo companheirismo e paciência.

Ao professor Cervantes Caporossi, que me acolheu neste programa, por toda confiança depositada em mim, pela oportunidade oferecida e acima de tudo, por todo ensinamento transmitido.

Ao professor Alex Semenoff Segundo, grande amigo, que vem me orientando desde os tempos da graduação, sempre transmitindo seus ensinamentos de forma amigável, paciente, esclarecendo as dúvidas que por muitas vezes estiveram presentes, sendo um grande incentivador e colaborador deste projeto.

Aos professores desta linha de pesquisa, nutrição e metabolismo, em especial, Prof^o. Cervantes Caporossi, Prof^o. José Eduardo de Aguiar S. do Nascimento, Prof^a Diana Borges D. Nascimento, pelas aulas ministradas, pelas informações transmitidas de forma exemplar, por todo auxílio prestado.

Aos professores do programa em Ciências da Saúde, que, sempre muito dedicados, dispostos a auxiliar, nos transmitem conhecimentos de forma brilhante.

Ao diretor da Universidade de Cuiabá - UNIC, Fábio Luis Miranda Pedro e ao coordenador do programa de pós graduação, Álvaro Henrique Borges, pelo apoio concedido na condução deste projeto.

À Prof^a Tereza A. Delle V. Semenoff, pelo apoio dado na execução do projeto, sempre de forma muito solícita.

Aos colegas do grupo de pesquisa em nutrição e metabolismo pela acolhida e convivência.

Aos colegas do programa de pós- graduação, por toda troca de experiência compartilhada.

Aos funcionários e colaboradores da secretária de pós- graduação, que sempre estavam dispostos a nos atender e nos orientar sobre as normas administrativas.

Enfim, à todas as pessoas que estiveram sempre me apoiando, de alguma forma, o meu muito obrigado.

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS: Adquired immuno deficient syndrome/ Síndrome da imunodeficiência adquirida

CHGM: Concentração da hemoglobina globular média.

CEP: Comitê de ética em pesquisa

cm: Centímetro

DIR: Lado direito

DP: Desvio padrão

ESQ: Lado esquerdo

g: Gramas

GA: Glutaminase

GC: Grupo controle

GE: Grupo experimental

GG: Grupo glutamina

GLN: Glutamina

GP: Grupo periodontite

GS: Glutamina sintetase

IL: Interleucina

Kg: Kilograma

kV: Kilovolts

mA: Miliampere

MAND: Mandibula

MAX: Maxila

mg: Miligramas

ml: Mililitros

mm: milímetros

mm²: milímetros quadrados

SPSS: Statistical Package for Social Sciences / Pacote estatístico para ciências sociais

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

VCM: Volume corpuscular médio

$^{\circ}\text{C}$: graus Celsius

%: Porcentagem

α : Alfa

® : Marca registrada

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representa as reações envolvendo as enzimas GS e GA, no metabolismo da glutamina.

Figura 2: Grupos de estudo

Figura 3: Gráfico cronológico do estudo

Figura 4: Parâmetro avaliado na análise radiográfica

Figura 5: Parâmetro avaliado na análise morfométrica

Figura 6: Radiografia da mandíbula do animal do GC.

Figura 7: Radiografia da mandíbula do animal do GP.

Figura 8: Maxila do GC corada com azul de metileno.

Figura 9: Maxila do GP corada com azul de metileno.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Comparação entre as massas corpóreas dos animais durante o experimento.

TABELA 2: Média do número de leucócitos dos animais.

TABELA 3: Média da distância da borda oclusal até o ápice da crista óssea alveolar obtida após análise radiográfica.

TABELA 4. Média da destruição do periodonto obtidos na análise morfométrica.

RESUMO

Introdução: A glutamina é o aminoácido mais abundante no corpo humano, está envolvida em diversas vias metabólicas e imunológicas, incluindo o fortalecimento do sistema imune. A suplementação com glutamina tem se mostrado eficaz na modulação do processo inflamatório. A periodontite é condição patológica de caráter infecto-inflamatório. O objetivo deste estudo é avaliar os efeitos da suplementação por gavagem de glutamina na progressão de doença periodontal, induzida em ratos. **Método:** Foram utilizados 48 ratos Wistar machos, adultos, com peso médio (DP) de 349g (54g), alocados em gaiolas coletivas de doze animais. Todos os animais receberam ração e água com livre acesso, e foram pesados no início do experimento e a cada quinze dias. Os animais foram randomizados em quatro grupos: dois grupos doentes: (PERIODONTITE, n=12 e EXPERIMENTAL, n=12) submetidos à indução de doença periodontal induzida por ligadura no segundo molar de cada hemi- arcada; e dois grupos saudáveis: (CONTROLE, n=12 e GLUTAMINA, n=12) submetidos apenas a manipulação, sem indução de doença. Nos grupos GG e GE, os ratos foram submetidos à suplementação de glutamina, sob a forma de gavagem diária, na dose de 1,5g/Kg/dia; e nos grupos GC e GP, os animais foram submetidos à suplementação com água destilada. No início do experimento os animais do GP e GE foram submetidos à operação para indução de doença periodontal por ligadura. No 2º dia de pós-operatório foi iniciada a suplementação dietética. Os animais foram sacrificados no 30º dia de pós-operatório, foram colhidas amostras sanguíneas, as maxilas e mandíbulas foram retiradas e radiografadas. O processamento radiográfico foi automatizado. Prontas as imagens radiográficas foram ampliadas em projetor de imagens e fotografadas. As imagens foram analisadas em um programa e mensurada a distancia da borda oclusal ate o ápice da crista óssea alveolar. Após, foi removido todo tecido mole das peças, e coradas com azul de metileno a 1%, as peças foram fotografadas e as imagens analisada por programa onde se mensurou a área de destruição periodontal da junção cimento- esmalte até a crista óssea alveolar. **Resultados:** A comparação referente à evolução da massa corpórea dos animais não mostrou diferenças entre os grupos. ($p>0,05\%$). Na comparação no número de leucócitos, o GE (6666,7- 1471,1) apresentou-se menor em comparação com o GP (9933,4 – 2857,9), $p< 0,05$. Na análise morfométrica, os animais que usaram glutamina, (116,63 - 22,50mm²), apresentaram menor destruição periodontal comparados com os que tiveram a indução da periodontite por ligadura, (143,15 - 35,24 mm²), ($p<0,05$). **Conclusão:** A suplementação com glutamina interfere no numero de leucócitos e hemácias ($p<0,05$). Na análise radiográfica e morfométrica a glutamina interferiu na progressão da doença periodontal ($p<0,05$).

Palavras chave: odontologia, glutamina, periodontite, ratos.

ABSTRACT

Introduction: Glutamine is the most abundant amino acid in the human body, is involved in several metabolic and immune pathways including strengthening of the immune system. The glutamine supplementation has been shown to be effective in modulating the inflammatory process. Periodontitis is pathological condition of infectious and inflammatory nature. The objective of this study is to evaluate the effects of supplementation by gavage of glutamine in the progression of periodontal disease induced in rats. **Method:** A total of 48 male Wistar rats, adults, with weight (SD) 349g (54g), allocated in collective cages of twelve animals. All animals received food and water with free access, and were weighed at the beginning of the experiment and every two weeks. The animals were randomized into four groups: two patient groups (periodontitis, n = 12 and test, n = 12) undergoing periodontal disease induction induced by ligature of the second molar hemi each arch; healthy and two groups: (controls n = 12 and glutamine, n = 12) undergoing only the handling without inducing disease. In GG and GE, the rats were subjected to supplemental glutamine in the form of daily gavage at doses of 1.5g / kg / day; and GC and GP groups, the animals were supplemented with distilled water. At the beginning of the experiment the animals of GP and GE underwent operation for induction of periodontal disease by ligature. On the 2nd day postoperative dietary supplementation started. The animals were sacrificed on the 30th day after surgery, blood samples were collected, the jaws and jaws were removed and X-rayed. The radiographic processing was automated. Ready radiographic images were enlarged in pictures and photographed projector. The images were analyzed in a program and measured the distance of the occlusal edge until the height of alveolar crest. After it was removed all soft tissue parts, and stained with 1% methylene blue, the pieces were photographed and the images analyzed by program where you measured the area of periodontal destruction of cemento- junction to the alveolar crest. **Results:** The comparison on the evolution of body weight of the animals showed no differences between the groups. (P <0.05%). In comparing the number of leukocytes, GE (6666,7- 1471.1) was lower compared to the GP (9933.4 to 2857.9), p <0.05. In the morphometric analysis, animals that used glutamine, (116.63 - 22,50mm²), had lower periodontal destruction compared with those who had the induction of periodontitis by ligation, (from 143.15 to 35.24 mm²), (p < 0.05). **Conclusion:** Supplementation with glutamine affects the number of leukocytes and erythrocytes (p <0.05). The radiographic and morphometric analysis glutamine interfere with the progression of periodontal disease (p <0.05).

Key words: dentistry, glutamine, periodontitis rats.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3. REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 Doença periodontal	17
3.2 Glutamina	17
4. MÉTODOS	20
4.1 Animais	20
4.2 Grupos de estudo	20
4.3 Indução da doença	21
4.4 Suplementação dietética	22
4.5 Sacrifício dos animais	22
4.6 Dados Avaliados	23
4.6.1 Massa corpórea	23
4.6.2 Hemograma	23
4.6.3 Análise Radiográfica	23
4.6.4 Análise Morfométrica	24
4.7 Análise estatística	25
5. RESULTADOS	25
5.1 Massa Corpórea	26
5.2 Hemograma	26
5.3 Análise Radiográfica e Morfométrica	27
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÃO	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	34

9. APÊNDICE	43
-------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A glutamina é um aminoácido encontrado livre mais abundante no plasma e no tecido muscular encontrado de forma abundante no corpo humano, e considerado não essencial devido ser sintetizado praticamente em todos os tecidos, principalmente na musculatura esquelética¹.

Em situação de grande estresse metabólico, ocorre diminuição de sua concentração no plasma e no músculo esquelético. Essa queda é provavelmente causada por aumento da sua demanda especialmente no fígado, rins, intestinos e no sistema imunológico². Foi observada diminuição da concentração da glutamina em situações de sepse, trauma, desnutrição e infecção⁵.

A glutamina não atua somente como um precursor para a síntese proteica, mas também é um importante intermediário para um grande número de vias metabólicas. É um precursor que doa nitrogênio para a síntese de purinas, piridinas, nucleotídeos e amino-açúcares que são necessários em grande quantidade para a atividade de células imunes⁶, além de ser um precursor da glutatona, que é um potente antioxidante⁷.

Assim sendo, possui participação no sistema de defesa do organismo. A diminuição de glutamina provoca queda da proliferação de linfócitos em resposta a estimulação antigênica. Deste modo, a suplementação com glutamina determina menor índice de infecção³.

Um ponto de destaque da glutamina são os resultados encontrados em pacientes submetidos a tratamento de radioterapia e quimioterapia frente a lesões malignas. Apesar de muitos dos seus mecanismos de ações ainda serem desconhecidos, acredita-se que um deles é relacionado a apoptose celular. Parece que há um fortalecimento das

estruturas intracelulares capazes de manter a síntese celular e assim, manter não somente a célula em funcionamento, mas evitar novas mortes, além da renovação e estímulo do sistema imune e inflamatório⁴.

As doenças que afetam o periodonto, são em geral, processos infecto-inflamatório que se manifestam clinicamente através de uma pequena úlcera sangrante localizada no sulco gengival – entre dente e gengiva -, estes processos são capazes de liberar vários mediadores químicos inflamatórios no organismo, causando uma repercussão sistêmica.^{8,9,10}

Diante do exposto, espera-se encontrar alguma relação entre a suplementação com glutamina na patogênese da doença periodontal.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar se a suplementação com glutamina é capaz de interferir na progressão da doença periodontal induzida em ratos.

2.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a perda óssea radiográfica causada pela doença periodontal e observar a influência da glutamina neste processo.
- b) Analisar morfometricamente a área onde a doença será induzida e observar se a glutamina interfere neste processo.
- c) Avaliar os efeitos da doença periodontal e da suplementação com glutamina sobre a contagem de leucócitos.
- d) Avaliar o efeito da doença periodontal e da suplementação de glutamina sobre a massa corpórea dos animais ao longo do experimento.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Doença periodontal

A doença periodontal está presente em mais de 90% da população mundial variando seu grau de severidade¹¹, ela acomete os tecidos de suporte ao redor do elemento dental, cemento, ligamento periodontal, osso alveolar, gengiva^{12,13}. A doença geralmente começa por uma inflamação induzida pelo acúmulo de biofilme na parede dental que afeta inicialmente tecido mole, gengiva, e constitui um processo reversível denominado gengivite, com o passar do tempo, a doença evolui, começa ocorrer à destruição dos tecidos de suporte, o tecido epitelial que fica aderido ao dente se solta, formando bolsas periodontais e expondo tecido conjuntivo, o biofilme fica mais virulento, assim o quadro de periodontite está instalado^{14,15}.

A periodontite pode se manifestar em diferentes condições clínicas, levando em conta sua extensão e severidade¹⁶, evidências apontam que são vários os fatores que podem modificar o padrão de progressão da doença, dentre eles: tabaco, álcool, doenças sistêmicas como diabetes e AIDS, estresse^{16,17}.

Devido a natureza inflamatória da periodontite, esta é capaz de liberar na corrente sanguínea diversos mediadores químicos, entre eles, fator de necrose tumoral (TNF- α), diversas interleucinas (IL), IL-1, IL-6, IL-4, IL17 e outros^{18, 19, 20}.

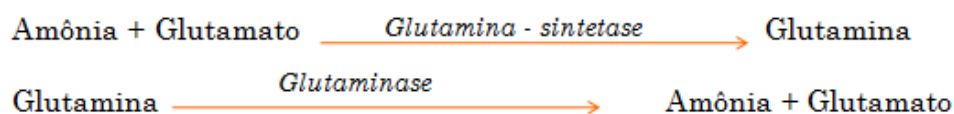
3.2 Glutamina

A glutamina é um L- α -aminoácido, mais abundante encontrado no corpo humano, cerca de 60% do pool de aminoácidos corresponde à glutamina, sua fórmula é $C_5H_{10}N_2O_3$ e possui peso molecular de 146 Kilodaltons e pode ser sintetizada por todos os tecidos do organismo, sendo classificado como aminoácido não essencial^{38 39}.

Entretanto esta classificação tem sido questionada, nos casos de trauma, queimaduras, estresse, atividade física intensa (estados catabólicos) e na acidose, o tecido muscular é capaz de aumentar a taxa de síntese e liberação de glutamina para a corrente sanguínea, em resposta ao aumento da demanda por outros órgãos e tecidos. A concentração de glicocorticóides durante estados catabólicos aumenta, levando a alterações fisiológicas adaptativas como: aumento do fluxo de glutamina do músculo, aumento da atividade da glutamina sintetase (GS) e diminuição dos estoques de glutamina muscular, devido a situações como estas descritas o consumo de glutamina passa a ser maior que sua produção tornando-a essencial para o organismo^{40,41,42}.

Existem várias enzimas envolvidas no metabolismo da glutamina, entretanto, apenas duas são responsáveis pela sua síntese, a partir do glutamato ou por sua degradação, em glutamato, são elas: glutamina sintetase (GS) e a glutaminase (GA). A geração de glutamina – pela atividade da GS – também é importante para manter uma baixa concentração de amônia. O acúmulo de amônia é responsável por convulsão generalizada, distúrbios na neurotransmissão, alterações no pH intracelular, alterações eletrofisiológicas, inibição enzimática e alteração no transporte de aminoácidos⁴³.

Figura 1. Representa as reações envolvendo as enzimas GS e GA, no metabolismo da glutamina.



Adaptado : Antonio J; Street C⁴⁴.

Alguns trabalhos demonstram a relação da glutamina com o processo inflamatório, Schlemmer⁴⁵, em 2015, num trabalho envolvendo 100 pacientes com diagnóstico de tumor, buscou investigar a fadiga, o estado nutricional e o prognóstico inflamatório desses pacientes com o nível de glutamina plasmática. Como conclusão foi percebido que nesses

pacientes, onde a condição inflamatória é intensa por causa do tumor o nível de glutamina plasmática é menor e está associado a fadiga.

4. MÉTODOS

Todos os procedimentos foram realizados somente após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade de Cuiabá (CEP/UNIC), sob numero de registro 050/CEP/UNIC e numero de protocolo 2012-050.

4.1 Animais

Para o presente experimento foram selecionados 48 ratos da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, provenientes do biotério da Universidade de Cuiabá – UNIC, com massa corporal de 349g em média e desvio padrão de 54g, foram mantidos com ração balanceada (Nuvilab® - Nuvital Nutrientes S/A, Curitiba, PR, Brasil) e água ad libitum, sob ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura controlada de 23°C e umidade de \pm 50%. Os mesmos passaram por uma adaptação ao novo ambiente durante 7 dias.

4.2 Grupos de estudo

Após o período de adaptação os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos distintos; Grupo controle (GC); Grupo glutamina (GG); Grupo periodontite (GP); Grupo experimental (GE); com n=12 em todos os grupos.

Grupo controle (GC): Animais saudáveis.

Grupo glutamina (GG): Animais saudáveis que receberam suplementação de glutamina, via oral por gavagem na dose de 1,5g/Kg/dia.

Grupo periodontite (GP): Animais com doença periodontal induzida.

Grupo experimental (GE): Animais com doença periodontal induzida e que receberem suplementação de glutamina, via oral por gavagem na dose de 1,5g/Kg/dia.

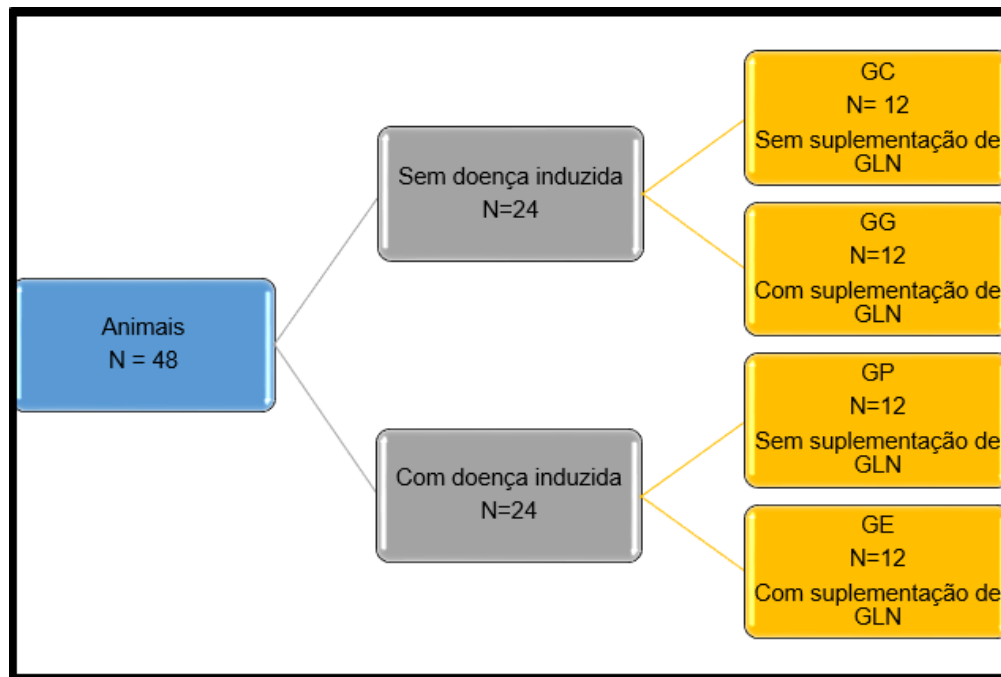


Figura 2: Grupos de estudo

4.3 Indução da doença

No primeiro dia, todos os animais foram anestesiados com administração intramuscular de 0,1 ml de cloridrato de cetamina (Dopalen, AgribRANDS. Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil) - 50mg/ml -, associado a 0,05 ml de cloridrato de xilazina (Rompun, Bayer. Saúde Animal, São Paulo, SP. Brasil) -2g por cada 100ml- para cada 100g de peso corporal. Nos animais dos grupos GP e GE foi feito uma pequena luxação no segundo molar superior direito e primeiro molar inferior direito e um fio de sutura de seda foi colocado em volta do dente, induzindo a doença periodontal, o tempo de permanência foi de 30 dias. Nos animais dos grupos GC e GG foi feito apenas uma pequena luxação nos dentes correspondentes. Todos os procedimentos foram feitos pelo mesmo operador que já estava previamente treinado.

4.4 Suplementação dietética

No dia seguinte ao ato cirúrgico deu-se início a suplementação dietética dos animais com glutamina, para os animais do grupo GG e GE em dose única de 1,5g/Kg/dia, em suspensão a 50%, administrados por gavagem. Com auxílio de uma seringa e uma cânula, os animais eram imobilizados e todo conteúdo era injetado na cavidade oral de forma lenta para se evitar traumas.

Os animais do grupo GC e GP receberam durante esse período água destilada, com mesmo volume e administrado de forma igual aos animais do GE GG.

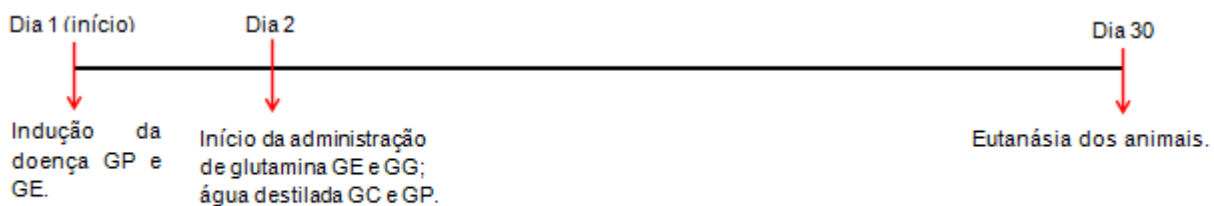


Figura 3: Gráfico cronológico do estudo.

4.5 Sacrifício dos animais

Todos os animais foram sacrificados no 30º dia de experimento, com excesso anestésico e inalação, em sistema fechado de campânula, de éter etílico comercial. Foram coletadas amostras de sangue venoso, por punção da cava, o material foi acondicionado em frasco próprio, dois frascos por animal, um dos frascos foi para realização de hemograma e outro para realização de exames laboratoriais. Após a coleta de sangue procedeu-se com a retirada da maxila e mandíbula que foram fixadas em formol a 10%. Os animais que evoluíram para óbito durante o experimento foram excluídos das análises.

4.6 Dados Avaliados

4.6.1 Massa corpórea

Antes do início do experimento, após quinze dias do início, e ao final, no dia da eutanásia, os animais foram pesados. Foi utilizada balança eletrônica para pesagem dos animais, regulada de acordo com os padrões do INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia).

4.6.2 Hemograma

As amostras sanguíneas foram mandadas ao laboratório onde se realizou mensuração dos leucócitos.

4.6.3 Análise Radiográfica

As radiografias foram obtidas utilizando-se um aparelho de radiografia dental convencional do modelo spectro 70x, (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil). As peças foram colocadas sobre o filme radiográfico (Kodak Dental Intraorale- Soeed Film, São Paulo, SP, Brasil) e o cone foi posicionado perpendicularmente a ele, mantendo uma distância de 50 cm, com tempo de exposição de 0,4 segundo, estando a radiação a 70kV e 8 mA. A revelação da radiografia foi feita em processadora automática²¹. Prontas, as imagens radiográficas foram ampliadas em projetor de imagens e fotografadas. As imagens foram analisadas por um software ImageLab (DiraconBio Informática Ltda. Vargem Grande do Sul, SP, Brasil). O parâmetro analisado foi a distância em mm da borda oclusal até o ápice da crista óssea alveolar entre o segundo e o primeiro molar de todas as arcadas.

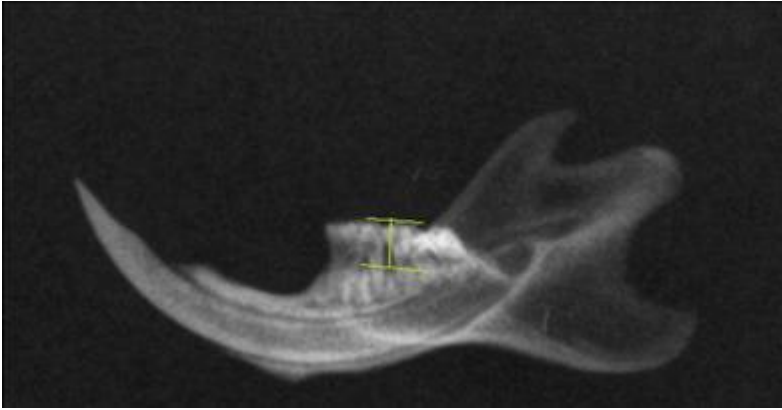


Figura 4: Parâmetro avaliado na análise radiográfica.

4.6.4 Análise Morfométrica

Para análise morfométrica as peças foram imersas em água oxigenada a 30%, por duas horas e foram removidos os tecidos moles com gaze, seguindo coloração com azul de metileno a 1% por 30 minutos e lavagem em água corrente para a remoção do excesso de corante. As peças foram secas e as imagens capturadas por uma máquina fotográfica de alta resolução. O parâmetro analisado foi a área em mm^2 de perda óssea entre a junção cimento- esmalte à crista óssea alveolar, na região vestibular, nos elementos em que a doença havia sido induzida, as mensurações foram feitas com ajuda do software ImageLab (DiraconBio Informática Ltda. Vargem Grande do Sul, SP, Brasil).

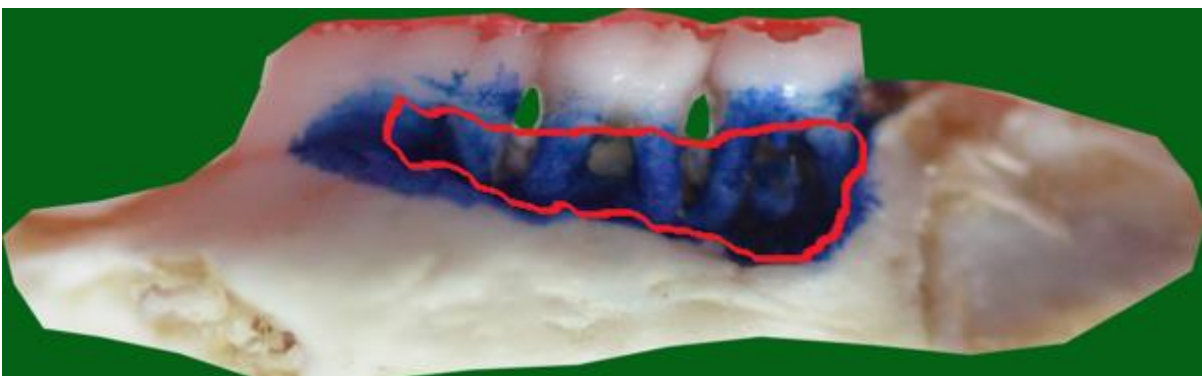


Figura 5: Parâmetro avaliado na análise morfométrica.

4.7 Análise estatística

Conforme os dados analisados foram propostos os testes julgados adequados, sempre observando a condição de homogeneidade e normalidade entre as variâncias através do teste de Levene e Shapiro-Wilk. Para os dados de massa corpórea foi utilizado o teste de análise de variância de uma via, ANOVA one-way, com post hoc Tukey, o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Para os dados do hemograma, radiográficos e morfométricos foi adotado o teste estatístico de análise de variância de duas vias, ANOVA multi-way, adotando nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para os fatores analisados, neste caso: saúde ou doença; e uso ou não de suplementação com glutamina. Todos os cálculos e gráficos foram realizados através dos programas: SPSS para Windows 17.0 (Statistical Package for Social Sciences).

5. RESULTADOS

Do total de 48 animais, 3 animais vieram a óbito ainda na primeira semana de estudo, dois do grupo controle e um do grupo experimental, esses animais foram excluídos da análise estatística. Não houve diferença estatística quanto aos óbitos. ($p = 0,2712$. Teste qui quadrado).

5.1 Massa Corpórea

Tabela 1: Comparação entre as massas corpóreas dos animais durante o experimento.

GRUPO	MASSA INICIAL		MASSA D15		MASSA D30	
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
GC	359,7 ^{Aa}	58,6	376,6 ^{Ba}	58,1	354,1 ^{Ca}	56,8
GG	361,1 ^{Ab}	34,9	349,5 ^{Bb}	28,2	352,1 ^{Cb}	29,6
GP	339,6 ^{Ac}	70,1	339,2 ^{Bc}	54,3	338,5 ^{Cc}	60,7
GE	336,4 ^{Ad}	50,9	358,6 ^{Bd}	35,1	342,9 ^{Cd}	33,5

ANOVA de uma via com *post hoc* Tukey. Letras maiúsculas iguais significam ausência de diferença estatística ($p>0,05$) na coluna. Letras minúsculas iguais significam ausência de diferença estatística ($p>0,05$) na linha. GC: grupo controle; GG: grupo glutamina; GP: grupo periodontite; GE: grupo experimental. DP: desvio padrão.

A tabela 1 compara a massa corporal entre os animais no início, meio e fim do experimento, percebeu-se que não há diferenças estatísticas das médias entre os grupos. Também não há diferença na massa corporal intra- grupo ao longo do experimento.

5.2 Hemograma

Tabela 2: Média do número de leucócitos dos animais.

Grupo	Média	DP
GC	5216,6 ^a	1717,2
GG	6754.5 ^a	1973,0
GP	9933.3 ^b	2857,95
GE	6666.6 ^a	1471,1

ANOVA com *post hoc* Tukey. Letra diferente significa diferença estatística ($p<0,05$). GC: grupo controle; GG: grupo glutamina; GP: grupo periodontite; GE: grupo experimental; DP: Desvio padrão.

A tabela 2 mostra que o GP tem uma média de leucócitos maior e estatisticamente significativa quando comparado aos demais grupos, é possível perceber também ausência de diferença estatística entre GC, GG e GE.

5.3 Análise Radiográfica e Morfométrica

Tabela 3: Média da perda óssea obtida na análise radiográfica.

Fator	Média	Desvio Padrão
Controle	11,69 [*]	1,21
Glutamina	16,89 [*]	3,94
Glutamina	16,89 [#]	3,94
Periodontite	18,91 [#]	2,25
Controle	11,69 [£]	1,21
Periodontite	18,91 [£]	2,25

ANOVA de duas vias. * Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$); # Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$); £Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$); As medidas utilizadas referem-se às mensurações feitas em milímetros no periodonto destruído.

Tabela 4. Média da destruição do periodonto obtidos na análise morfométrica.

Fator	Média	Desvio Padrão
Glutamina	*116,63	22,50
Controle	*82,32	7,84
Periodontite	#143,15	35,24
Glutamina	#116,63	22,50
Periodontite	\$143,15	35,24
Controle	\$82,32	7,48

ANOVA de duas vias. * Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$); # Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$); \$Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$); As medidas utilizadas referem-se às mensurações feitas em milímetros quadrados (mm^2) no periodonto destruído.

Ao observar as tabelas 3 e 4, análise radiográfica e análise morfométrica respectivamente, os resultados obtidos estão em concordância. O fator doença

isoladamente interferiu de maneira significativa ($p < 0,001$) no desfecho, que neste caso é a medida da perda óssea radiográfica mensurada em milímetros e a destruição óssea mensurada em mm^2 . Da mesma forma o fator suplementação com glutamina isoladamente exerce uma influência significativa ($p < 0,001$) nos parâmetros analisados. Nota-se, na mesma linha de comportamento, que a suplementação com glutamina também exerce sobre os animais com doença induzida uma influência significativa do ponto de vista estatístico ($p < 0,001$) capaz de modificar o padrão de resposta, percebido tanto na análise radiográfica quanto na análise morfométrica.



Figura 6: Radiografia da mandíbula do animal do GC.

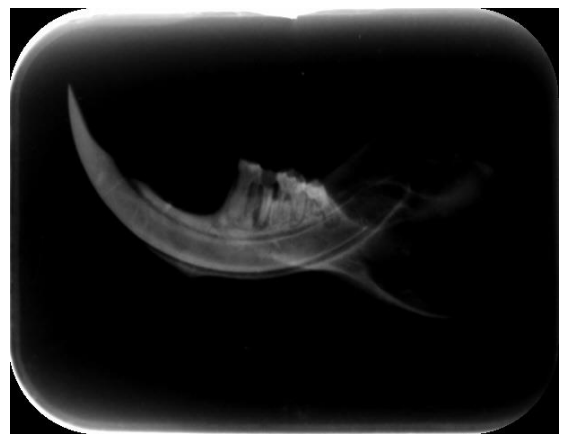


Figura 7: Radiografia da mandíbula do animal do GP.



Figura 8 : Maxila do GC corada com azul de metileno.



Figura 9 : Maxila do GP corada com azul de metileno.

6. DISCUSSÃO

Diferentes modelos envolvendo animais podem ser empregados para avaliar a progressão da doença periodontal, contudo, neste estudo optou-se por executar em ratos devido às grandes semelhanças com humanos no padrão de resposta, baixo custo de pesquisa, fácil manuseio, semelhança quanto à anatomia de molares²². O método de colocação do fio de seda ao redor dos molares para a indução da doença também tem sido amplamente empregado por diversos trabalhos^{23, 24, 25,26,35} e neste trabalho mais uma vez se mostrou eficaz.

Bendyk et al²⁷, em 2009, publicou um estudo com objetivo de avaliar a influência da suplementação com Ômega -3 na doença periodontal. Para isso contou com 70 ratos, divididos em dois grupos, ambos os grupos tiveram a doença periodontal induzida, após 25 dias foram sacrificados e suas arcadas analisadas, nesse estudo foi possível concluir que o Omega-3 foi capaz de modular a inflamação periodontal. Este trabalho está de acordo com o presente experimento pelo fato de ambos utilizarem imunonutrientes como fator para modular a doença periodontal.

Porém, a simples suplementação alimentar não é capaz de interferir no padrão de progressão da doença periodontal, é necessário que tal nutriente tenha participação em vias metabólicas que modulem o processo inflamatório.

É importante ressaltar que o simples aumento de massa corporal ao contrário torna-se um fator negativo na etiopatogenia da periodontite. Um ensaio com 28 ratos divididos em dois grupos, um com dieta regular e outro grupo com dieta com alto teor de açúcar e gordura, depois de 17 semanas os animais foram examinados para ver o aparecimento de periodontite espontânea, e o aumento de massa corporal. Como conclusão foi observado que o grupo com dieta com alto teor de açúcar e gordura teve uma maior ocorrência de periodontite espontânea, além do aumento de massa corporal significativo⁴⁸. Outros estudos em humanos já encontraram a mesma hipótese⁴⁶, entretanto o assunto não é claro.⁴⁷

Nesse sentido, Simch et al.²⁸, em 2008, num experimento com 30 ratas, divididas em dois grupos, um com dieta regular com 16 ratas e outro com 14 ratas com dieta hipercalórica, o objetivo do trabalho era observar se o ganho de massa corporal influenciaria na progressão de doença periodontal, ambos os grupos tiveram doença periodontal induzida pelo mesmo método deste presente estudo. Ao fim deste experimento foi possível concluir que o aumento da massa corpórea ou o aumento da ingestão de alimentos que não exerçam efeito nas vias inflamatórias do organismo, não são capazes de alterar o padrão de progressão da doença periodontal.

Em 2012, Verzeletti et al.²⁹, num estudo com 24 ratas divididas em dois grupos, uma com dieta regular com 11 ratas e outro grupo com dieta com alto teor de açúcar e gordura com 13 ratas, foi induzido doença periodontal em todos os animais e depois de 30 dias da indução da doença os animais foram sacrificados. Foi feita a análise morfométrica e constatou-se que a obesidade pode agravar a doença periodontal.

Neste estudo, os animais foram divididos em quatro grupos distintos, os animais do GC e GP foram submetidos à gavagem contendo água destilada com o objetivo de simular o manuseio com o animal, porém não receberam nenhum tipo de suplementação oral, o único alimento era a própria ração que já recebiam, justificativa que se faz pela necessidade de se estabelecer grupos de controle sem interferência de nenhuma substância e pelo fato que a suplementação ou não com outro aminoácido sem função de imunonutrição não causaria diferença no padrão de resposta para doença periodontal.

Quanto ao método de análise morfométrica, existem vários trabalhos na literatura que o validam^{26, 30,31,32,33}. Fernandes et al²⁶, em 2007, num estudo experimental comparou a análise morfométrica com a análise histológica com objetivo de verificar se havia diferença entre os métodos. Para o estudo foram selecionados 10 ratos wistar e divididos em dois grupos, em todos os animais a doença periodontal foi induzida, ao final, retirou-se as maxilas, 5 foram para análise histológica e cinco para análise morfométrica, como conclusão os autores não encontraram diferenças quantos as mensurações feitas em ambos os métodos.

O método utilizado para análise radiográfica também está em acordo com diversos trabalhos publicados^{21, 30, 34}. Semenoff et al²⁴, em 2013, buscou avaliar o efeito do estresse crônico em ratos recém nascido na progressão de doença periodontal quando adultos. Para análise da destruição óssea periodontal foi utilizado o método radiográfico semelhante ao utilizado neste presente experimento.

A suplementação com imunonutrientes têm de forma geral modulado o processo inflamatório e oxidativo, favorecendo a recuperação do organismo. Gouvêa-Junior et al³⁶, em 2011, com o objetivo de avaliar os efeitos na proteção antioxidante plasmática e na lesão tecidual renal e pulmonar da glutamina administrada por via oral precedendo a

isquemia/ reperfusão renal, 33 ratos foram selecionados e submetidos a nefrectomia à direita, e divididos em três grupos, glutamina, controle e sham. 14 dias após procedeu-se a isquemia e reperfusão à esquerda. Ao fim do experimento conclui-se que a glutamina melhora os níveis da capacidade antioxidante total.

Liu et al³⁷, em 2014, num estudo de meta-análise, procurou buscar evidências da associação de doença periodontal crônica à biomarcadores do estresse oxidativo. De 329 artigos procurados, foram selecionados 16 por serem de grande impacto científico. Os autores concluíram que a capacidade antioxidante total fica diminuída na presença de periodontite crônica e que os níveis de malondialdeído e óxido nítrico ficam mais elevados quando comparados a pacientes saudáveis.

Este estudo parece estar em sintonia com todos os outros trabalhos aqui apresentados, a relação entre glutamina e doença periodontal precisa ser mais explorada já que a literatura atual carece de informações a esse respeito, espera-se assim que os dados aqui produzidos sejam usados para colaborar com novas pesquisas e um dia chegar a aplicação clínica trazendo benefícios ao homem.

7. CONCLUSÃO

1. O modelo experimental apresentado de indução da doença periodontal é eficaz.
2. A massa corpórea dos animais suplementados com glutamina não difere, em comparação com animais não suplementados, ao longo do experimento.
3. A glutamina interfere favoravelmente no número de leucócitos dos animais com doença periodontal.
4. A glutamina diminui a perda óssea causada pela periodontite induzida, avaliado na análise radiográfica e morfométrica.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zielke HR, Ozand PT, Tildon JT, Seddalian DA, Cornblath M. Reciprocal regulation of glucose and glutamine utilization by cultured human diploid fibroblast. *J Cell Physiol* 1978,95:41-8.
2. Greig JE, Crawford P, Keast D, Garcia-Webb P. Inter relationships between glutamine and other biochemical and immunological changes after major vascular surgery. *Br J Biomed Sci* 1996, 53:116-21.
3. Cavalcante AA, Campelo MW, de Vasconcelos MP, Ferreira CM, Guimarães SB, Garcia JH, de Vasconcelos PR. Enteral nutrition supplemented with L-glutamine in patients with systemic inflammatory response syndrome due to pulmonary infection. *Nutrition*. 2012 Apr;28(4):397-402. doi: 10.1016/j.nut.2011.07.011. Epub 2011 Nov 4.
4. Stachowicz-Stencel T, Synakiewicz A. Glutamine as a supplemental treatment in pediatric and adult oncology patients. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012 Dec;21(12):1861-71. doi: 10.1517/13543784.2012.717929. Epub 2012 Aug 23.
5. Al Balushi RM, Cohen J, Banks M, Paratz JD. The clinical role of glutamine supplementation in patients with multiple trauma: a narrative review. *Anaesth Intensive Care*. 2013 Jan;41(1):24-34.

6. Adeva MM, Souto G, Blanco N, Donapetry C. Ammonium metabolism in humans. *Metabolism*. 2012 Nov;61(11):1495-511. doi: 10.1016/j.metabol.2012.07.007. Epub 2012 Aug 24.
7. Reddell L, Cotton BA. Antioxidants and micronutrient supplementation in trauma patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012 Mar;15(2):181-7. doi: 10.1097/MCO.0b013e32835076df.
8. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Dis*, 14 (3) (2008), pp. 191–203 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2008.01442.x>.
9. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, *et al*. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*, 83 (2) (2004), pp. 156-160 <http://dx.doi.org/10.1177/154405910408300214>
10. D'Aiuto F, Ready D, Tonetti MS. Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodontal Res*, 39 (4) (2004), pp. 236–241 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.2004.00731.x>
11. Laudенbach JM, Simon Z. Common dental and periodontal diseases: evaluation and management. *Med Clin North Am*. 2014 Nov;98(6):1239-60. doi: 10.1016/j.mcna.2014.08.002. Epub 2014 Oct 18. Review.

12. Seymour GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol*. 1991 Jul;18(6):421-6.
13. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997 Jun;14:144-57.
14. Page RC, Offenbacher S, Schroeder H E, Seymour GJ, Kornman KS. Advance's pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997 Jun;14:216-48.
15. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;5:78–111.
16. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4(1):1–6.
17. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014 Nov;93(11):1045-53. doi: 10.1177/0022034514552491. Epub 2014 Sep 26. Review.

18. Dosseva-Panova VT, Popova CL, Panov VE. Subgingival microbial profile and production of proinflammatory cytokines in chronic periodontitis. *Folia Med (Plovdiv)*. 2014 Jul-Sep;56(3):152-60.
19. Newman MG, Takei HH, Carranza AF. *Clinical Periodontology*, 9th ed. WB Saunders Co. Philadelphia, USA 2006;Chaps 4,8,14:70-71,126- 136,208-210.
20. Souto GR, Queiroz-Junior CM, Costa FO, Mesquita RA. Effect of smoking on immunity in human chronic periodontitis. *Immunobiology*. 2014 Dec;219(12):909-15. doi: 10.1016/j.imbio.2014.08.003. Epub 2014 Aug 10.
21. Semenoff-Segundo A, Porto NA, Semenoff TA, Cortelli JR, Costa FO, Cortelli SC, et al. Effects of two chronic stress models on ligature- induced periodontitis in wistar rats. *Archives of Oral Biology*, Elmsford, v.57, n 1, p. 66-72, 2012.
22. Wilderer PA, Bral M. Laboratory animal models in periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, Copenhagen, v.26, n.6, p.335-340, june 1999.
23. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Cairo, v.2011, n.1, p.1-8, Feb. 2011.
24. Semenoff TADV, Rosa-junior A, Borges AH, Porto AN, Caporossi C, Semenoff-Segundo A. Effect of chronic stress in newborn rats on the progression of ligature-

induced periodontitis in adulthood. *Acta Cirúrgica Brasileira (Impresso)*, v. 28, p. 652-656, 2013.

25. Porto AN, Borges AH, Semenoff-Segundo A, SEmenoff TA, Pedro FL, Bandeca MC, et al. Lipid profile parameters under influence of periodontitis associated with chronic stress: An animal model study. *J International oral health*, v. 5, p. 8-14, 2013.
26. Fernandes MI, Gaio EJ, Oppermann RV, Rados PV, Rosing CK. Comparison of histometric and morphometric analyses of bone height in ligature-induced periodontitis in rats. *Braz Oral Res.* 2007 Jul-Sep;21(3):216-21.
27. Bendyk A, Marino V, Zilm PS, Howe P, Bartold PM. Effect of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on experimental periodontitis in the mouse. *J Periodontal Res.* 2009 Apr;44(2):211-6. doi: 10.1111/j.1600-0765.2008.01108.x. Epub 2009 Feb 6.
28. Simch RP, Gaio EJ, Rosing CK. Effect of body weight in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. *Acta Odontol Scand.* 2008 Jun;66(3):130-4. doi: 10.1080/00016350802004672.
29. Verzeletti GN, Gaio EJ, Linhares DS, Rosing CK. Effect of obesity on alveolar bone loss in experimental periodontitis in Wistar rats. *J Appl Oral Sci.* 2012 Mar-Apr;20(2):218-21.

30. Foureaux, RC. Avaliação radiográfica, morfométrica e histométrica de terapias probióticas (*Bacillus subtilis*) em modelo de doença periodontal induzida em ratos submetidos a estresse crônico por imobilização. Dissertação de mestrado, 2012. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.
31. Oballe HJ, Gaio EJ, Spuldaro T, Cavagni J, Gomez R, Rosing CK. Effects of alcohol and/or tobacco exposure on spontaneous alveolar bone loss in rat. *Braz Dent J*. 2014;25(3):197-202.
32. Yağan A, Kesim S, Liman N. Effect of low-dose doxycycline on serum oxidative status, gingival antioxidant levels, and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2014 Mar;85(3):478-89. doi: 10.1902/jop.2013.130138. Epub 2013 Jun 20.
33. Ozdemir H, Kara MI, Erciyas K, Ozer H, Ay S. Preventive effects of thymoquinone in a rat periodontitis model: a morphometric and histopathological study. *J Periodontal Res*. 2012 Feb;47(1):74-80. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01406.x. Epub 2011 Oct 13.
34. Nassar CA, Battistetti GD, Nahsan FP, Olegário J, Marconato J, Marin CF, et al. Evaluation of the effect of simvastatin on the progression of alveolar bone loss in experimental periodontitis--an animal study. *J Int Acad Periodontol*. 2014 Jan;16(1):2-7.

35. de Molon RS, de Avila ED, Boas Nogueira AV, Chaves de Souza JA, Avila-Campos MJ, de Andrade CR, et al. Evaluation of the host response in various models of induced periodontal disease in mice. *J Periodontol.* 2014 Mar;85(3):465-77. doi: 10.1902/jop.2013.130225. Epub 2013 Jun 27.
36. Gouvêa-Junior VT, Caporossi C, Salomão AB, Côrtes E, Munhoz MF, Nascimento JE. Effect of glutamine on the antioxidant system of rats subjected to renal ischemia and reperfusion. *Acta Cirúrgica Brasileira.* V 26(6) 2011-445.
37. Liu Z, Liu Y, Song Y, Zhang X, Wang S, Wang Z. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Dis Markers.* 2014;2014:931083. doi: 10.1155/2014/931083. Epub 2014 Nov 16.
38. Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate- Their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochemistry and Function.* V.21, p.1-9, 2003.
39. Lacey JM, Wilmore DW. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutrition Reviews,* v.48, p.297-309, 1990.
40. Rowbottom DG, Keast D, Morton AR. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sport Med.* 1996; 21: 80-97.

41. Walsh NP, Blannin AK, Bishop NC, Robson PJ, Gleeson M. Effect of oral glutamine supplementation on human neutrophil lipopolysaccharide-stimulated degranulation following prolonged exercise. *Inter J Sport Nut Exerc Metab.* 2000;10:39-50.
42. Krzywkowski K, Petersen EW, Ostrowski K, Kristensen JH, Boza J, Pedersen BK. Effect of glutamine supplementation on exercise-induced changes in lymphocyte function. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 281:C1259-C1265.
43. Field CJ, Johnson I, Pratt VC. Glutamine and arginine: immunonutrients for improved health. *Med Sci Sports Exerc.* 2000, 32 (7 Suppl): S377-S388.
44. Antonio J; Street C. Glutamine: a potentially useful supplement for athletes. *Canadian Journal of Applied Physiology*, v.24, n.1, p.1-14, 1999.
45. Schlemmer M, Suchner U, Schapers B, Duerr EM, Alteheld B, Zwingers T, et al. Is glutamine deficiency the link between inflammation, malnutrition, and fatigue in cancer patients? *Clin Nutr.* 2015 Jan 10. pii: S0261-5614(15)00005-9. doi: 10.1016/j.clnu.2014.12.021.
46. Dalla Vecchia CF, Susin C, Rösing CK, Oppermann RV, Albandar. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *J Periodontol.* 2005 Oct;76(10):1721-8.

47. Nascimento GG, Leite FR, Correa MB, Peres MA, Demarco FF. Does periodontal treatment have an effect on clinical and immunological parameters of periodontal disease in obese subjects? A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Invest* 2015 Dec 1 (Epub ahead of print).

48. Cavagni J, Wagner TP, Gaio EJ, Rêgo RO, Torres IL, Rosing CK. Obesity may increase the occurrence of spontaneous periodontal disease in Wistar rats. *Arch Oral Biol*. 2013 Aug;58(8):1034-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.

9. APÊNDICE

 <p>UNIVERSIDADE DE CUIABÁ</p>
Registro: n° 050 CEP/UNIC – protocolo n° 2012-050
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/UNIC
DECLARAÇÃO
Declaramos, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa: "Efeito da Ingestão de Glutamina na Progressão de Periodontite Induzida. Estudo Experimental em Ratos" do (a) pesquisador (a) Alex Semenoff Segundo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá - UNIC.
Cuiabá-MT, 28 de junho de 2012.
 Prof. Ms. Margarete Lovato Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa UNIC