

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/06/2023.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maria Eduarda Scordamaia Lopes

**Influência da obesidade na progressão da doença periodontal experimental
induzida em ratos: análise histológica, microtomográfica e proteômica**

Araraquara

2021



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maria Eduarda Scordamaia Lopes

**Influência da obesidade na progressão da doença periodontal experimental
induzida em ratos: análise histológica, microtomográfica e proteômica**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

Araraquara

2021

L864i Lopes, Maria Eduarda Scordamaia
Influência da obesidade na progressão da doença
periodontal experimental induzida em ratos: análise histológica,
microtomográfica e proteômica / Maria Eduarda Scordamaia
Lopes. -- Araraquara, 2021
73 f.: il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientador: Joni Augusto Cirelli

1. Obesidade. 2. Doenças periodontais. 3. Perda do osso
alveolar. 4. Proteínas. 5. Ligamento periodontal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Maria Eduarda Scordamaia Lopes

Influência da obesidade na progressão da doença periodontal experimental induzida em ratos: análise histológica, microtomográfica e proteômica

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia na área de Periodontia

Presidente e orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli – FOAr/UNESP

2º Examinador: Prof. Dr. Fábio Renato Manzolli Leite – Aarhus University

3º Examinador: Profa. Dra. Andreia Bufalino – FOAr/UNESP

Araraquara, 23 de junho de 2021

DADOS CURRICULARES

Maria Eduarda Scordamaia Lopes

NASCIMENTO: 18/01/1996 – Santa Rita do Passa Quatro – São Paulo

FILIAÇÃO: Mario Lopes Júnior
Maria Emília Scordamaia

2014 – 2018: Curso de Graduação em Odontologia
Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2019 – 2021: Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Periodontia
Nível de Mestrado
Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meu pais, **Mario Lopes Júnior** e **Maria Emília Scordamaia**, fonte de amor eterno e inigualável. Vocês ao meu lado me trazem coragem para seguir em frente. Obrigada por sempre me apoiarem e por não medirem esforços para que eu possa realizar meus sonhos.

À minha irmã, **Maria Gizele Scordamaia Pernassi**, por estar presente em toda a minha caminhada, por acreditar tanto em mim e no meu futuro, muitas vezes apostando mais em mim do que em si mesma. Espero um dia corresponder às suas expectativas.

À minha sobrinha e afilhada, **Marina Pernassi Abreu**, que me ensina diariamente uma nova forma de amor.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli**, por todos esses anos de orientação e conhecimento compartilhados. Obrigada pela confiança, oportunidades, incentivo e por ser exemplo de profissional e ser humano. A você minha eterna admiração e respeito.

À minha grande amiga e companheira de pesquisa, **Camila Chierici Marcantonio**. É muito gratificante poder dividir a vida e a pesquisa com alguém como você, sempre disposta, prestativa e leal. Uma amizade que levarei comigo com carinho.

Aos demais orientados do Prof. Joni, **Andressa Vilas Boas Nogueira**, **Rafael Scaf de Molon** e **Natália Leguizamon** por compartilharem seus conhecimentos e pela contribuição para a realização desse trabalho.

Aos meus amigos da Pós-Graduação, **Isabella dos Santos**, **Ísis de Fátima Balderrama**, **Fernanda Castanheira**, **Felipe Pinotti** e **José Rodolfo Spin**, por fazerem parte da minha rotina e por tornarem esses anos mais alegres e proveitosos. Agradeço toda a ajuda, carinho e momentos felizes que passamos juntos.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP**, representada por seu diretor, Prof. Dr. Edson Alves Campos e vice-diretora Profa. Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia** da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pela contribuição para a minha formação profissional.

Aos **Professores da disciplina de Periodontia**, por serem inspiração, contribuírem ativamente para a minha formação, pelas orientações e ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, em especial: **Ana Claudia Miranda, Suleima Ferreira, Isabela Manzoli e Antônio Medeiros Filho**, pelo suporte técnico, por sempre estarem dispostos a ajudar e por me acolherem tão bem desde o primeiro dia.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UNESP, em especial ao **Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa**, por realizarem a análise bioquímica do perfil lipídico e níveis de glicemia.

À **Profa. Dra. Débora Simões de Almeida Colombari**, da Disciplina de Fisiologia da FOAr/UNESP, pelos esclarecimentos e auxílio quanto à dieta hiperlipídica.

Ao **Centro de Facilidades de Apoio à Pesquisa (CEFAP-USP)**, pela análise de Espectometria de Massas e Análise do Proteoma (BIOMASS).

À

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2018/23599-9) pelo apoio financeiro essencial para a realização dessa pesquisa.

Lopes MES. Influência da obesidade na progressão da doença periodontal experimental induzida em ratos: análise histológica, microtomográfica e proteômica [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

RESUMO

Estudos têm sido conduzidos para se entender melhor os mecanismos moleculares de progressão da doença periodontal nos diferentes tecidos periodontais. Porém, a literatura ainda é escassa sobre a influência da obesidade nesses mecanismos. O objetivo do presente estudo foi avaliar in vivo o efeito da obesidade na progressão da doença periodontal. Um total de 16 ratos foram distribuídos em 2 grupos experimentais: grupo indução de doença periodontal experimental (P) e indução de obesidade seguido de indução de doença periodontal experimental (OP). A indução de obesidade foi realizada com dieta rica em gordura por 90 dias. A massa corporal dos animais foi registrada semanalmente. Após 21 dias do início da indução da doença periodontal os animais foram sacrificados e os tecidos adiposos foram removidos e pesados em balança de precisão. Análise sorológica foi realizada para observar o perfil lipídico e os níveis de glicemia. Análise microtomográfica foi realizada nas hemimaxilas para medir o percentual de volume ósseo alveolar (BVF), densidade óssea alveolar (BMD) e análise linear de perda óssea. A perda óssea alveolar foi mensurada histologicamente por histometria. A proporção dos componentes teciduais foi determinada histologicamente por estereometria. A composição proteica do ligamento periodontal foi avaliada através de análise proteômica. A partir desta análise, foram selecionadas 3 proteínas com diferenças significantes entre os grupos, e que apresentam função relevante para o processo inflamatório, para validação de sua presença no ligamento periodontal por meio de imuno-histoquímica. Foi utilizado teste estatístico t-student e adotado um nível de significância de 5%. Houve aumento significativo da massa corporal e peso dos tecidos adiposos nos animais do grupo OP. Os grupos não apresentaram diferença estatística nas análises de perda óssea. Na análise proteômica, um total de 819 proteínas foram identificadas. Na condição clínica de doença periodontal associada a obesidade, as proteínas Spondina 1, Vinculina e TRAP apresentaram-se em maior abundância e foram selecionadas por sua relevância clínica. Concluímos que embora a obesidade não tenha favorecido a progressão da doença periodontal no parâmetro de perda óssea, a caracterização proteica do ligamento periodontal em condições de doença periodontal, associado ou não à obesidade, pode ser um método auxiliar de estudo para a identificação de novos biomarcadores associados a doenças, demonstrando alterações moleculares e favorecendo estudos para alvos terapêuticos para a doença periodontal.

Palavras chave: Obesidade. Doenças periodontais. Perda do osso alveolar. Proteínas. Ligamento periodontal.

Lopes MES. Influence of obesity on the progression of induced experimental periodontal disease in rats: histological, microtomographic and proteomic analysis [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

ABSTRACT

Many studies have been conducted to understand better the molecular mechanism of periodontal disease progression in different periodontal tissues. However, the literature is limited on the influence of obesity on these mechanisms. This study aimed to evaluate *in vivo* the effect of obesity on periodontal disease progression. Sixteen Holtzman rats were distributed into 2 groups: ligature-induced periodontal disease (P), and obesity induction followed by ligature-induced periodontal disease (OP). Obesity was induced by a high-fat diet for 90 days. The body mass of the animals was recorded weekly. After 21 days of the induction of periodontal disease, the animals were sacrificed and the adipose tissues were removed and weighed on precision scales. Serological analysis was performed to observe the lipid profile and blood glucose levels. Microtomographic analysis was performed on the hemimaxillae to measure the percentage of alveolar bone volume (BVF), alveolar bone density (BMD), and linear analysis of bone loss. Alveolar bone loss was measured histologically by histometry. The proportion of tissue components was determined histologically by stereometry. The protein composition of the periodontal ligament was evaluated by proteomic analysis. From this analysis, three proteins with significant differences between groups and that have a relevant function in the inflammatory process were selected to validate their presence in the periodontal ligament by immunohistochemistry. The statistical t-student test was used and a 5% significance level was adopted. There was a significant increase in body mass and adipose tissue weight in the animals of the OP group. The groups showed no statistical difference in the analyses of bone loss. In the proteomic analysis, a total of 819 proteins were identified. In the clinical condition of periodontal disease associated with obesity, the proteins Spondin 1, Vinculin and TRAP were more abundant and were selected for their clinical relevance. We conclude that although obesity has not favoured the progression of periodontal disease in the alveolar bone loss parameter, the protein characterization of the periodontal ligament in periodontal disease conditions, associated or not with obesity, may be an auxiliary method of study for the identification of new disease-associated biomarkers, demonstrating molecular changes and favouring studies for therapeutic targets for periodontal disease.

Keywords: Obesity. Periodontal diseases. Alveolar bone loss. Proteins. Periodontal ligament.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 PROPOSIÇÃO	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específica.....	16
3 PUBLICAÇÃO	17
4 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE.....	63
ANEXO	73

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é atualmente considerada uma doença inflamatória sistêmica de baixo grau com etiologia multifatorial, onde fatores de risco como a genética, infecções ou alterações no ciclo circadiano podem contribuir à sua patogênese¹. Ocorre pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no corpo, e é definida quando o cálculo de índice de massa corporal (IMC) resulta em valor igual ou maior a 30kg/m²². A causa fundamental da obesidade e do sobrepeso é um desequilíbrio energético entre as calorias consumidas e as calorias gastas. Segundo a Organização Mundial da Saúde, os índices de sobrepeso e obesidade continuam a crescer em adultos e crianças. De 1975 a 2016, a prevalência de obesidade em crianças cresceu de 4% para 18% mundialmente. Dados de 2016 revelam que 13% da população mundial era considerada obesa, tornando esse um problema de saúde pública³.

Os tecidos adiposos produzem e liberam várias citocinas conhecidas como adipocinas, por exemplo, visfatina, leptina, resistina e adiponectina, além de citocinas pró-inflamatórias consagradas, como as interleucinas². Essas adipocinas não só regulam a resistência à insulina e o gasto energético, como também os processos imunoinflamatórios e de cicatrização^{4,5}. Enquanto a adiponectina exerce efeito anti-inflamatório, as demais adipocinas apresentam características pró-inflamatórias⁶.

A adiponectina é responsável por modular processos metabólicos e imunes através da inibição de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF α , e pelo aumento de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10)⁷. A resistina é uma adipocina, originalmente encontrada no tecido adiposo, mas também liberada por monócitos, macrófagos e medula óssea. A característica pró-inflamatória da resistina inclui a secreção do fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), além de interferir nos efeitos anti-inflamatórios da adiponectina^{8,9}. Além da resistina, níveis elevados de visfatina tem sido detectado em fluido crevicular gengival e soro de pacientes com doença periodontal, sugerindo que a visfatina seja produzida no periodonto e seja regulada por processo inflamatório¹⁰⁻¹². Em um estudo in vitro do nosso grupo foi demonstrado que as células do ligamento periodontal (hPDL) produzem visfatina e que essa produção está aumentada em resposta ao estímulo bacteriano por *Fusobacterium nucleatum*¹³. A leptina é uma adipocina secretada no tecido adiposo, e possui ação no hipotálamo modulando apetite e saciedade, regulando o peso corporal¹⁴. Além disso, atua em células imunológicas, participando em processos inflamatórios sistêmicos e locais¹⁵⁻¹⁷. Os níveis séricos dessas

adipocinas encontram-se elevados em pacientes obesos e em pacientes apresentando outras condições ou doenças inflamatórias¹⁸⁻²⁰. Na doença periodontal, as adipocinas também estão aumentadas no fluido crevicular gengival, sugerindo que estas podem contribuir com a inflamação periodontal, aumentando, portanto, o risco da doença periodontal ou o comprometimento da cicatrização periodontal^{10-12,21}.

Sobrepeso e obesidade têm sido sugeridos como associados à doença periodontal devido aos efeitos na saúde sistêmica causados pela obesidade, afetando a susceptibilidade do hospedeiro à periodontite devido à mediadores inflamatórios²². Uma das hipóteses é que o tecido adiposo, por ser um grande reservatório de mediadores inflamatórios, como citocinas e hormônios, participe na patogênese e modulação da doença periodontal²³. A periodontite é uma doença inflamatória crônica, com alta prevalência na população adulta, caracterizada por uma resposta inflamatória gengival contra uma microbiota bacteriana patogênica, resultando em perda óssea alveolar e, eventualmente, perda dentária²⁴.

A associação entre obesidade e doença periodontal foi relatada pela primeira vez em animais em 1977 por Perlstein & Bissada²⁵, e em humanos em 1998 por Saito et al²⁶.

No estudo de Perlstein & Bissada²⁵, foram utilizados ratos Zucker hereditariamente obesos e induzido doença periodontal através de ligadura. Observaram que houve maior perda óssea alveolar nos ratos obesos quando comparados aos ratos não-obesos. Também notaram que apenas a obesidade não promove alterações patológicas no periodonto quando há condição de saúde bucal; porém, na presença de fatores inflamatórios, como elevado acúmulo de placa, animais obesos apresentaram inflamação mais severa.

Saito et al²⁶ analisaram 241 pacientes portadores ou não de doença periodontal e/ou obesidade. Concluíram que a obesidade e a periodontite estão relacionadas, e que esta pode ser exacerbada por algumas condições associadas à obesidade, como por exemplo, resistência à insulina.

Estudos em animais^{1,27-32} vem sendo conduzidos para que possa haver melhor compreensão entre obesidade e doença periodontal; porém, esses estudos divergem entre si quanto à metodologia adotada e também quanto aos seus resultados.

Simch et al²⁷ utilizaram dieta de cafeteria por 120 dias, com indução de doença periodontal com ligadura nos segundos molares superiores por 30 dias. Concluíram que o estabelecimento e progressão da perda óssea alveolar não foi influenciada pela

obesidade. Embora Zuza et al³¹ tenham utilizado a mesma metodologia para a indução de doença periodontal, concluíram que a obesidade induzida por uma dieta rica em gordura influenciou o metabolismo ósseo alveolar quando associada à periodontite experimental, e causou uma resposta inflamatória local e perda óssea alveolar mais grave. Cavagni et al³⁰ induziram a doença periodontal por um período de 30 dias, através de ligadura com fio de algodão, e também obtiveram como resultado uma maior extensão de destruição periodontal quando associada à indução de obesidade com dieta de cafeteria.

Diferente dos estudos anteriores, Virto et al¹ utilizaram dois patógenos para a indução da doença periodontal: *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, administrados através de gavagem oral por 4 dias consecutivos durante 12 semanas. Para a indução da obesidade foi utilizada uma dieta rica em gordura durante 24 semanas. Como resultados, constataram o efeito da comorbidade, demonstrando aumento da severidade periodontal e aumento da inflamação sistêmica.

A avaliação da influência da obesidade em condições de periodonto saudável também é outro ponto a ser destacado. Damanaki³³ e colaboradores em 2018 avaliaram através de microtomografia computadorizada as consequências de uma dieta rica em gorduras na maxila e mandíbula de camundongos. Como resultados constataram que não houve diferença na perda óssea alveolar na maxila de camundongos obesos, quando comparado aos animais que receberam dieta padrão para roedores. Porém, foi observada uma maior remodelação óssea na mandíbula dos animais obesos, exclusivamente na região de primeiro molar. Esses resultados corroboram os achados do nosso grupo³⁴, onde não foi observada diferença estatística na perda óssea alveolar ao analisarmos a maxila de ratos, entre os grupos controle e obesidade, em condições de saúde periodontal. Porém, no estudo de Cavagni³⁰ e colaboradores, após induzirem obesidade com dieta de cafeteria, demonstraram uma maior perda óssea alveolar na maxila de ratos obesos comparados aos animais que não sofreram indução da obesidade. Esses achados reforçam que os diferentes resultados encontrados podem estar associados às diferenças metodológicas presentes.

Estudos em humanos também estão sendo conduzidos para melhor compreensão entre obesidade e doença periodontal. Em revisão sistemática realizada por Martinez-Herrera et al³⁵, foram analisados 28 estudos: 19 estudos observacionais

e 9 estudos clínicos avaliando a resposta ao tratamento periodontal. Dentre os 19 estudos observacionais, todos avaliaram a obesidade através do índice de massa corporal, alguns associando também o valor da circunferência abdominal, relação cintura/quadril e porcentagem de gordura corporal. Para a avaliação de periodontite, parâmetros clínicos foram utilizados, dentre eles profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, índice de placa e sangramento a sondagem. Como resultado, 17 estudos apresentaram uma associação positiva entre doença periodontal e obesidade, demonstrando que indivíduos obesos possuem maior incidência de doença periodontal comparada à população com peso normal, sugerindo que sobrepeso e obesidade possam ser um fator de risco ao desenvolvimento ou piora da periodontite.

Dos estudos clínicos encontrados na literatura e incluídos na revisão sistemática de Martinez-Herrera et al³⁵, que avaliaram o efeito da obesidade sobre a resposta clínica ao tratamento periodontal, seis concluíram que a obesidade não exerce um efeito modificador negativo sobre o resultado do tratamento periodontal não cirúrgico, demonstrando que pacientes obesos ou não obesos respondem de maneira similar ao tratamento periodontal. Em contraste, três artigos sugeriram que a obesidade exerce um efeito negativo sobre a resposta ao tratamento periodontal não cirúrgico no parâmetro de profundidade de sondagem.

Além dos parâmetros clínicos analisados na progressão da doença periodontal, biomarcadores estão sendo amplamente estudados com o objetivo de auxiliar o diagnóstico precoce e tratamentos para a doença periodontal³⁶. Os biomarcadores de proteínas podem ser aplicados na prática a muitas fases da periodontite, desde o início da doença até seu desfecho clínico³⁷. Com isso, estudos moleculares focados na caracterização do proteoma na doença periodontal vem sendo amplamente realizados, como demonstrado na recente revisão sistemática de Rizal e colaboradores em 2020³⁸. A espectrometria de massa permite a caracterização do proteoma e correlações de condições clínicas. Também é indicado para o estudo de doenças multifatoriais, como a periodontite³⁷. A análise proteômica nos traz informações acerca dos mecanismos reguladores celulares sobre o nível proteico em grande escala³⁹. Associado à análise de bioinformática, nos proporciona uma visão global e integrada de um conjunto de proteínas, onde podemos analisar suas interações, modificações, localizações e funções⁴⁰. Através da análise de ontologia gênica (Gene Ontology) visualizamos os resultados como redes, divididos entre os

termos Processo Biológico, Função Molecular e Componente Celular, que são agrupados com base no seu papel biológico⁴¹. Dessa forma, sugerimos que um estudo avaliando as alterações proteicas em condição de doença periodontal e obesidade possa corroborar o conhecimento que temos atualmente, além de contribuir para um melhor entendimento do mecanismo de progressão da periodontite associada à obesidade.

4 CONCLUSÃO

Através das análises de massa corporal, peso dos tecidos adiposos e análise sorológica, podemos concluir que o método de indução de obesidade através de uma dieta rica em gordura é eficaz, promovendo alterações teciduais e no perfil lipídico dos animais que receberam essa dieta.

Nos parâmetros de destruição tecidual, analisados por microtomografia computadorizada e análise histométrica, não observamos um efeito negativo da obesidade na progressão da doença periodontal experimental, caracterizado pela perda óssea alveolar, através do modelo de indução utilizado.

Na análise de inflamação tecidual, realizada por análise estereométrica, foi observada uma maior quantidade de vasos sanguíneos no grupo com indução de obesidade, sugerindo uma maior inflamação na área analisada.

A análise proteômica permitiu uma identificação das diferenças no perfil proteico do ligamento periodontal em condição de doença associada à obesidade. Os resultados fornecem dados importantes para futuros estudos visando um melhor entendimento da progressão da doença periodontal em indivíduos sistemicamente saudáveis ou com obesidade. No presente trabalho, as proteínas pró-inflamatórias Spondina-1, Vinculina e a enzima TRAP apresentaram produção aumentada no ligamento periodontal de animais obesos com doença periodontal, sugerindo um aumento do risco de destruição periodontal e progressão da doença na presença da obesidade, embora esse potencial agravamento não tenha se confirmado nas condições clínicas estudadas.

REFERÊNCIAS*

1. Virto L, Cano P, Jiménez-Ortega V, Fernández-Mateos P, González J, Esquifino AI, et al. Obesity and periodontitis: an experimental study to evaluate periodontal and systemic effects of comorbidity. *J Periodontol*. 2018;89(2):176–85.
2. Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11 Suppl 1):S64-73.
3. WHO. World Health Organization. [Internet]. Obesity and overweight. {Acesso em 20/05/21}. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
4. Adamczak M, Wiecek A. The adipose tissue as an endocrine organ. *Semin Nephrol*. 2013;33(1):2–13.
5. Kawai T, Autieri M V., Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2021;320(3):C375–91.
6. Conde J, Scotece M, Gómez R, López V, Gómez-Reino JJ, Lago F, et al. Adipokines: biofactors from white adipose tissue. A complex hub among inflammation, metabolism, and immunity. *Biofactors*. 2011;37(6):413–20.
7. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Tsiaousi E. The role of adiponectin in the pathogenesis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(5):365–83.
8. Suresh S, Mahendra J, Singh G, Pradeep Kumar AR, Thilagar S, Rao N. Effect of nonsurgical periodontal therapy on plasma-reactive oxygen metabolite and gingival crevicular fluid resistin and serum resistin levels in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*. 2018;22(4):310–6.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

9. Nogueira AVB, Nokhbehshaim M, Tekin S, de Molon RS, Spolidorio LC, Memmert S, et al. Resistin is increased in periodontal cells and tissues: in vitro and in vivo studies. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:9817095.
10. Pradeep AR, Raghavendra NM, Prasad MVR, Kathariya R, Patel SP, Sharma A. Gingival crevicular fluid and serum visfatin concentration: their relationship in periodontal health and disease. *J Periodontol.* 2011;82(9):1314–9.
11. Raghavendra NM, Pradeep AR, Kathariya R, Sharma A, Rao NS, Naik SB. Effect of non surgical periodontal therapy on gingival crevicular fluid and serum visfatin concentration in periodontal health and disease. *Dis Markers.* 2012;32(6):383–8.
12. Pradeep AR, Raghavendra NM, Sharma A, Patel SP, Raju A, Kathariya R, et al. Association of serum and crevicular visfatin levels in periodontal health and disease with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2012;83(5):629–34.
13. Nogueira AVB, Nokhbehshaim M, Eick S, Bourauel C, Jäger A, Jepsen S, et al. Regulation of visfatin by microbial and biomechanical signals in PDL cells. *Clin Oral Investig.* 2014;18(1):171–8.
14. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994;372(6505):425–32.
15. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998;394(6696):897–901.
16. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J.* 1998;12(1):57–65.
17. La Cava A. Leptin in inflammation and autoimmunity. *Cytokine.* 2017;98:51–8.
18. Taşkesen D, Kirel B, Us T. Serum visfatin levels, adiposity and glucose metabolism in obese adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012;4(2):76–81.

19. Chang Y-H, Chang D-M, Lin K-C, Shin S-J, Lee Y-J. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27(6):515–27.
20. Zhang LQ, Heruth DP, Ye SQ. Nicotinamide phosphoribosyltransferase in human diseases. *J Bioanal Biomed*. 2011;3:13–25.
21. Suvan JE, Finer N, D’Aiuto F. Periodontal complications with obesity. *Periodontol 2000*. 2018;78(1):98–128.
22. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol*. 2005;76(11 Suppl):2075–84.
23. Jagannathachary S, Kamaraj D. Obesity and periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*. 2010;14(2):96–100.
24. Williams RC. Periodontal disease. *N Engl J Med*. 1990;322(6):373–82.
25. Perlstein MI, Bissada NF. Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1977;43(5):707–19.
26. Saito T, Shimazaki Y, Sakamoto M. Obesity and periodontitis. *New England J Med*. 1998; 339: 482–3.
27. 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;66(3):130–4.
28. Endo Y, Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Tamaki N, et al. Experimental periodontitis induces gene expression of proinflammatory cytokines in liver and white adipose tissues in obesity. *J Periodontol*. 2010;81(4):520–6.
29. Verzeletti GN, Gaio EJ, Linhares DS, Rösing CK. Effect of obesity on alveolar bone loss in experimental periodontitis in Wistar rats. *J Appl Oral Sci*. 2012;20(2):218–21.

30. Cavagni J, de Macedo IC, Gaio EJ, Souza A, de Molon RS, Cirelli JA, et al. Obesity and hyperlipidemia modulate alveolar bone loss in wistar rats. *J Periodontol*. 2016;87(2):e9-17.
31. Zuza EP, Garcia VG, Theodoro LH, Ervolino E, Favero LFV, Longo M, et al. Influence of obesity on experimental periodontitis in rats: histopathological, histometric and immunohistochemical study. *Clin Oral Investig*. 2018;22(3):1197–208.
32. do Nascimento CM, Cassol T, da Silva FS, Bonfleur ML, Nassar CA, Nassar PO. Radiographic evaluation of the effect of obesity on alveolar bone in rats with ligature-induced periodontal disease. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2013;6:365–70.
33. Damanaki A, Memmert S, Nokhbehshaim M, Sanyal A, Gnad T, Pfeifer A, et al. Impact of obesity and aging on crestal alveolar bone height in mice. *Ann Anat = Anat Anzeiger*. 2018;218:227–35.
34. Marcantonio CC, Nogueira AVB, Leguizamón NDP, de Molon RS, Lopes MES, Silva RCL, et al. Effects of obesity on periodontal tissue remodeling during orthodontic movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2021;159(4):480–90.
35. Martinez-Herrera M, Silvestre-Rangil J, Silvestre F-J. Association between obesity and periodontal disease. A systematic review of epidemiological studies and controlled clinical trials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22(6):e708–15.
36. Trindade F, Oppenheim FG, Helmerhorst EJ, Amado F, Gomes PS, Vitorino R. Uncovering the molecular networks in periodontitis. *Proteomics Clin Appl*. 2014;8(9–10):748–61.
37. Guzman YA, Sakellari D, Arsenakis M, Floudas CA. Proteomics for the discovery of biomarkers and diagnosis of periodontitis: a critical review. *Expert Rev Proteomics*. 2014;11(1):31–41.
38. Rizal MI, Soeroso Y, Sulijaya B, Assiddiq BF, Bachtiar EW, Bachtiar BM. Proteomics approach for biomarkers and diagnosis of periodontitis: systematic review. *Heliyon*. 2020;6(6):e04022.

39. Bao K, Bostanci N, Selevsek N, Thurnheer T, Belibasakis GN. Quantitative proteomics reveal distinct protein regulations caused by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* within subgingival biofilms. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119222.
40. Graves PR, Haystead TAJ. Molecular biologist's guide to proteomics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2002;66(1):39–63.
41. Mlecnik B, Galon J, Bindea G. Comprehensive functional analysis of large lists of genes and proteins. *J Proteomics*. 2018;171:2–10.