

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/08/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

OTÁVIO AUGUSTO PACHECO VITÓRIA

**Influência da suplementação dietética com luteína sobre a
progressão e no tratamento da periodontite experimental induzida
em ratos**

**Araçatuba
2023**

OTÁVIO AUGUSTO PACHECO VITÓRIA

**Influência da suplementação dietética com luteína sobre a
progressão e no tratamento da periodontite experimental induzida
em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (Unesp), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia – área de concentração de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Milanezi de Almeida.

Coorientadora: Profa. Dra. Vivian Cristina Noronha Novaes.

**Araçatuba
2023**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

V845i Vitória, Otávio Augusto Pacheco.
Influência da suplementação dietética com luteína sobre a
a progressão e no tratamento da periodontite experimental
induzida em ratos / Otávio Augusto Pacheco Vitória. –
Araçatuba, 2023
109 f.: il.; graf.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Juliano Milanezi de Almeida
Coorientadora: Profa. Vivian Cristina Noronha Novaes

1. Periodontite 2. Luteína 3. Raspagem dentária 4. Doenças
periodontais I.T.

Black D6
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedicatória

Aos meu avós ***Dircen e Dorca,***

sem vocês não seria possível atingir este objetivo, desde a minha infância me apoiaram incondicionalmente em todos os meus objetivos e sempre acreditaram no que eu poderia me tornar. Vocês me acompanharam e viveram comigo toda essa caminhada, mesmo que árdua, da pós-graduação e hoje eu só estou atingindo esse objetivo graças a vocês.

À minha mãe ***Dilaine,***

a senhora sempre priorizou os meus sonhos e meu futuro, deixando o restante de lado. Você é meu maior exemplo de amor, carinho, honestidade, sinceridade e companheirismo. Juntos passamos por diversos obstáculos e dificuldades nos últimos anos, sempre superamos e continuaremos juntos. Obrigado por sempre me proteger e cuidar de mim, me escutar e aconselhar; não me imagino vivendo sem a senhora ao meu lado.

Agradecimentos especiais

Ao orientador e mentor **Professor. Dr. Juliano Milanezi de Almeida**, obrigado por ter me aceito como seu orientado no curso de Mestrado e me dar essa oportunidade em sua equipe. Quando entrei na equipe, vindo de uma realidade totalmente diferente e sem experiência com pesquisa, o senhor sempre se mostrou paciente e solícito em me ensinar. Obrigado por todo carinho, ajuda e confiança deposita em mim durante todo esse período assim como por todas as brincadeiras e momentos de descontração, o senhor fez com que me sentisse cada vez mais acolhido e feliz, em especial na reta final do mestrado. Maioria das vezes chegava na sala do senhor com a fisionomia de desespero pra resolver algum problema ou desabafar sobre algo que aconteceu, no final o senhor sempre enxergava o lado positivo de tudo, não medindo esforços para me ajudar com o que precisasse, independente do que fosse. Inclusive, desculpa novamente por gritar extremamente alto no ouvido do senhor quando me ligou para contar do resultado da FAPESP, nunca acreditei que conseguiria a aprovação da bolsa e ter recebido essa notícia do senhor foi a melhor coisa que aconteceu durante o mestrado, ainda mais de ver que o senhor estava feliz por mim também. Exímio profissional e exemplo de pessoa, extremamente humilde, empático e de um coração enorme, sempre protegendo seus orientados. Serei eternamente grato por toda confiança e oportunidades oferecidas, que sem dúvidas, o senhor foi fundamental para meu amadurecimento.

À minha coorientadora e mentora **Professora Dr. Vivian Cristina Noronha Novaes**, sou extremamente feliz e grato por ter a senhora na minha vida, desde a minha iniciação científica, a senhora sempre buscou me orientar e auxiliar em cada etapa com toda paciência, sabedoria, escutando minhas opiniões e os meus medos, o que foi fundamental para o meu desenvolvimento pessoal e profissional, sempre me guiando para o melhor caminho. Com o tempo desenvolvemos uma relação de confiança e de carinho, quando cheguei em Araçatuba, um lugar totalmente novo, a senhora estava ali para me apoiar e me acolher. Obrigado a sua família, ao Pedro, Laura e Helena por todo carinho para comigo e por permitir dividir momentos

com vocês. Serei eternamente grato por toda confiança deposita em mim e por acreditar no meu potencial. A senhora sempre será meu maior exemplo de profissional, pesquisadora e pessoa. Assim como o Prof. Juliano, a senhora teve um papel fundamental para que eu conseguisse a bolsa de mestrado, desde o terceiro ano da faculdade trabalhamos juntos para preparar meu currículo e desenvolver meu senso crítico/científico cada vez mais, além de sempre ter acreditado que seria possível a bolsa, mesmo eu estando desanimado. Obrigado por tudo que faz por mim.

Ao **Professor Dr. Guilherme Oliveira**, obrigador por compor minha banca examinado da Defesa de Dissertação. Desculpa se constrangi o senhor ao pedir uma foto no congresso da SBPqO, acompanho seu trabalho e ter o senhor compondo minha banca é algo que nunca imaginei, achei que não seria possível, ainda mais presencialmente. Obrigado por todo carinho e paciência nessas últimas semanas por compreender algumas limitações e fatos que ocorreram.

Ao **Professor Dr. Edilson Ervolino**, agradeço imensamente por ter aceito o convite de compor minha banca examinadora no Exame de Qualificação Geral e na Defesa da Dissertação. Agradecê-lo também por todo o cuidado e paciência em me ensinar, o seu amor pela docência e pela pesquisa nos instiga e motiva a continuar. Serei grato por todo apoio e cuidado comigo desde o início do mestrado, o senhor foi fundamental para que esse trabalho fosse realizado.

À minha amiga, **Giovanna Lima Fortunato**, sou muito feliz e grato por ter você em minha vida, uma amizade que surgiu de uma conversa despretensiosa em um dia de micrótomo e desde de então sempre estivemos juntos, apoiando um ao outro independente do que acontecesse. Obrigado por todo cuidado e atenção para comigo, assim mencionei diversas vezes pra ti, sempre irei cuidar e proteger você.

Ao **Henrique Rinaldi Matheus**, desde quando nos conhecemos, você foi extremamente gentil e acolhedor comigo, mesmo em momento difícil na reta final do mestrado, você estava

ali para apoiar e motivar. Você foi uma pessoa fundamental no meu amadurecimento pessoal quanto profissional, obrigado por todos os conselhos e conversas que tivemos. Agradeço imensamente por todo carinho e atenção em me ajudar, você foi imprescindível no resultado final desta pesquisa, serei eternamente grato a tudo o que você fez por mim. Você é o exemplo de pesquisador que gostaria de me tornar no futuro, extremamente humilde e dedicado, não apenas isso, faz de tudo o que está em seu alcance para ensinar o próximo e ajudar. Muito obrigado por tudo.

Ao meu amigo **Halef Diego Turini**, um grande irmão da pós-graduação, desde o início sempre estivemos juntos ajudando um ao outro. Com você compartilhei diversos momentos felizes, tristes, angustia, medos e frustrações, sempre podíamos contar um com o outro. Agradeço imensamente por sua companhia e ajuda durante o meu mestrado, sem você seria muito mais difícil essa jornada da pós-graduação. Obrigado pela sua amizade e parceria.

A minha amiga **Bianca Rafaeli Piovezan**, serei eternamente grato por toda ajuda e suporte durante a pós-graduação, você me recepcionou na chegada na pós-graduação, apesar do seu jeito reservado, conquistou minha confiança e amizade, sempre ajudamos um ao outro seja no âmbito profissional durante a pós-graduação quanto pessoal. Obrigado por sua amizade.

Aos meus colegas de Pós-graduação, **Luiz Guilherme Fiorin, Ruan Barra e Elisa Mara de Abreu Furquim**, agradeço imensamente pela parceria e auxílio neste trabalho e em outros da equipe. Além do bom convívio e amizade, pela paciência e parceria em tudo.

Aos **membros suplentes** da banca avaliadora que se disponibilizaram a contribuir com esta etapa e trabalho

À Direção da **Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP**, em nome do Diretor, Prof. Titular

Glauco Issamu Miyahara e Vice-Diretor, Prof. Titular Carlos Alberto Botazo Delbem, por todo suporte oferecido no desenvolvimento deste trabalho.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Odontologia na pessoa do **Professor Dr. Wirley Gonçalves Assunção**, pela ajuda dada ao desenvolvimento do curso de Pós-graduação.

Ao Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, na pessoa do chefe de departamento **Prof. Dr. Francisley Ávila de Souza**, pelo auxílio na condução desta pesquisa.

A *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)*, pela concessão de bolsa regular de Mestrado (Processo n° 2021/05925-9).

Em nome do Pesquisador Chefe Professor **Dr. Edilson Ervolino**, agradeço ao Laboratório de Osteobiologia Aplicada a Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP pela disponibilidade para executar a análise de imunoistoquímica.

Aos *funcionários* da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, que diretamente ou indiretamente, auxiliaram e foram importantes na execução deste trabalho. Em específico aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, **em nome da supervisora Cristiane**, pela disponibilidade e paciência para solucionar problemas e sanar dúvidas durante o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os **alunos de iniciação científica** do Departamento de Periodontia da equipe do Professor Juliano Milanezi de Almeida: **José Guilherme, Ester Santos, Leticia Ikejiri e Gabriela Carrara**, muito obrigado pela colaboração e ajuda durante as etapas do meu projeto de pesquisa. A ajuda de vocês foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos **animais** utilizados neste trabalho, minha gratidão e respeito.

Epigrafe

“Ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção.”

Paulo Freire

Resumo

VITÓRIA, O. A. P. **Influência da suplementação dietética com luteína sobre a progressão e no tratamento da periodontite experimental induzida em ratos**. 2023. 109f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

O propósito deste estudo foi de avaliar os efeitos da suplementação dietética com luteína (LT) na progressão no tratamento da periodontite experimental (PE). 120 ratos machos (*Wistar*) foram divididos em quatro grupos. A indução da PE foi realizada por meio da instalação de uma ligadura de algodão no primeiro molar inferior esquerdo. Grupos: ST-SS (n=30): 0,7 ml/kg de SS via gavagem gástrica (GG) diariamente. ST-LT (n=30): GG com 250mg/kg de LT, por todo período experimental. RAR-SS: 0,7 ml/kg de SS via GG diariamente, após 7 dias a RAR é realizada. RAR-LT: LT via GG diariamente, após 7 dias a RAR foi realizada. A eutanásia foi realizada aos 7, 15 e 30 dias após a indução de PE (ST-SS e ST-LT) ou RAR (RAR-SS e RAR-LT). As hemimandíbulas foram removidas e submetidas ao processamento por desmineralização para análise histométrica para porcentagem de osso na furca (POF), análise histopatológica da região de furca, análise imunohistoquímica para detecção da IL-1 β , TNF α , IL-10, TRAP e OCN. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Menor POF foi observado no grupo RAR/SS 7, 15 e 30 dias em relação ao grupo RAR/LT em todos os períodos ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças da POF no grupo ST/LT 7, 15 e 30 dias quando comparado ao grupo RAR/SS nos mesmos períodos. Na análise histopatológica, menor intensidade e extensão do processo inflamatório assim como maior estruturação do tecido conjuntivo e ósseo na região de furca foi observado no grupo RAR/LT e ST/LT aos 7, 15 e 30 dias quando comparado com o grupo RAR/SS e ST/SS nos mesmos períodos. Na análise imunoistoquímica, o grupo ST/LT 30 dias apresentou menor número de células TRAP-positivas quando comparadas ao grupo RAR/SS e RAR/LT no mesmo período ($p < 0,05$). O grupo RAR/SS 7 dias apresenta maior número de

células TRAP-positivas em relação ao grupo RAR/LT no mesmo período ($p<0,05$). O grupo ST/LT 30 dias apresentou maior densidade de imunomarcção para OCN quando comparado com o grupo RAR/LT no mesmo período ($p<0,05$). O grupo ST/LT 15 e 30 dias apresenta maior densidade de imunomarcção para OCN quando comparado com o grupo RAR/SS nos mesmos períodos ($p<0,05$). O grupo RAR/SS 15 e 30 dias apresentaram maior densidade de imunomarcção para IL-1 β em relação ao grupo RAR/LT nos mesmos períodos ($p<0,05$). O grupo ST/LT 7, 15 e 30 dias apresentou menor densidade de imunomarcção para IL-1 β em relação ao RAR/SS nos mesmos períodos ($p<0,05$). O grupo RAR/SS 15 e 30 dias apresentou menor densidade de imunomarcção para IL-10 quando comparado com o grupo RAR/LT nos mesmos períodos ($p<0,05$). O grupo ST/LT 30 dias apresentou maior densidade de imunomarcção para IL-10 em relação ao grupo RAR/SS 30 dias ($p<0,05$). O grupo ST/LT 7 dias apresentou menor densidade de imunomarcção para TNF α em comparação ao grupo RAR/SS 7 dias e RAR/LT 7 dias. Conclui-se que a LT se mostrou efetiva no controle da progressão da PE e quando associada a RAR, apresentou melhores resultados em comparação a SS adjuvante a RAR.

Palavras-chave: Luteína. Doenças periodontais. Periodontite. Raspagem dentária.

Abstract

VITÓRIA, O. A. P. **Influence of dietary supplementation with lutein on the progression and treatment of experimental induced periodontitis in rats.** 2023. 109f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effects of dietary lutein (LT) supplementation on progression in the treatment of experimental periodontitis (EP). 120 male rats (Wistar) were divided into four groups. PE induction was performed by installing a cotton ligature on the lower left first molar. Groups: ST-SS (n=30): 0.7 ml/kg of SS via gastric gavage (GG) daily. ST-LT (n=30): GG with 250mg/kg of LT, for the entire experimental period. RAR-SS: 0.7 ml/kg of SS via GG daily, after 7 days RAR is performed. RAR-LT: LT via GG daily, after 7 days RAR was performed. Euthanasia was performed at 7, 15 and 30 days after PE (ST-SS and ST-LT) or RAR (RAR-SS and RAR-LT) induction. The hemimandibles were removed and submitted to demineralization processing for histometric analysis for percentage of bone in the furcation (POF), histopathological analysis of the furcation region, immunohistochemical analysis for detection of IL-1 β , TNF α , IL-10, TRAP and OCN. Data were submitted to test Shapiro-wilk, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post-test ($p \leq 0.05$). Lower POF was observed in the RAR/SS group 7, 15 and 30 days compared to the RAR/LT group in all periods ($p < 0.05$). No POF differences were observed in the ST/LT 7, 15 and 30 days group when compared to the RAR/SS group in the same periods. In the histopathological analysis, lower intensity and extension of the inflammatory process, as well as greater structuring of connective and bone tissue in the furcation region, was observed in the RAR/LT and ST/LT group at 7, 15 and 30 days when compared to the RAR/SS group and ST/SS in the same periods. In the immunohistochemical analysis, the ST/LT 30 days group had a lower number of TRAP-positive cells when compared to the RAR/SS and RAR/LT groups in the same period ($p < 0.05$). The 7 day RAR/SS group has a higher number of TRAP-positive cells than the 7 day RAR/LT group

($p < 0.05$). The ST/LT 30 days group showed a higher density of immunostaining for OCN when compared to the RAR/LT group in the same period ($p < 0.05$). The ST/LT 15 and 30 days group showed a higher density of immunostaining for OCN when compared to the RAR/SS group in the same periods ($p < 0.05$). The RAR/SS 15 and 30 days group showed higher immunostaining density for IL-1 β compared to the RAR/LT group in the same periods ($p < 0.05$). The ST/LT 7, 15 and 30 days group showed lower immunostaining density for IL-1 β compared to RAR/SS in the same periods ($p < 0.05$). The 15 and 30 days RAR/SS group showed a lower immunostaining density for IL-10 when compared to the RAR/LT group in the same periods ($p < 0.05$). The ST/LT 30 days group showed a higher immunostaining density for IL-10 compared to the RAR/SS 30 days group ($p < 0.05$). The 7 day ST/LT group had a lower immunostaining density for TNF α compared to the 7-day RAR/SS and 7 day RAR/LT group. It is concluded that LT proved to be effective in controlling the progression of PE and when associated with RAR, it presented better results compared to SS adjuvanted with RAR.

Keywords: Lutein. Periodontitis. Periodontal disease. Dental scaling.

Lista de anexos

Lista de anexos

Anexo A	Normas para publicação no Periódico “ <i>Archives Oral Biology</i> ”	92
Anexo B	Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal	107
Anexo C	Certificado de análise da Luteína	108
Anexo D	Certificado de Análise do óleo de girassol	109

Lista de figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Delineamento experimental durante todo o período de execução dos grupos PE

83

Figura 2 – Delineamento experimental durante todo o período de execução dos grupos RAR

84

Figura 3 – Porcentagem de osso e características histopatológicas dos tecidos periodontais an região de furca. (A) Gráfico mostrando as médias $\pm$ desvios padrão da porcentagem de osso na furca para cada grupo e período. Testes estatísticos: ANOVA e Tukey ($p \leq 0,05$). Símbolos: ¶, diferença estatisticamente significativa com ST/LT no mesmo período ($p \leq 0,05$); *, diferença estatisticamente significativa com RAR/LT no mesmo período ($p \leq 0,05$); α , diferença estatisticamente significativa com RAR/SS no mesmo período ($p \leq 0,05$). (B-F) fotomicrografias representativas das características histopatológicas dos tecidos periodontais na região de furca em cada grupo e período. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Barras de escala: 100 μ m.

85

Figura 4 – Imunomarcção de TNF-alpha na região de furca. (A) Gráfico mostrando as médias $\pm$ desvios padrão da densidade de imunomarcção de TNF-alpha para cada grupo e período. Testes estatísticos: ANOVA e Tukey ($p \leq 0,05$). Símbolos: ¶, diferença estatisticamente significativa com ST/LT no mesmo período ($p \leq 0,05$); *, diferença estatisticamente significativa com RAR/LT no mesmo período ($p \leq 0,05$); α , diferença estatisticamente significativa com RAR/SS no mesmo período ($p \leq 0,05$); σ , diferença estatisticamente significativa com RAR/LT 7 dias no mesmo grupo ($p \leq 0,05$); ∞ , diferença estatisticamente significativa com RAR/SS 7 dias no mesmo grupo ($p \leq 0,05$). (B-F) fotomicrografias representativas da densidade de imunomarcção para TNF- alpha em cada grupo e período. Barras de escala: 100 μ m.

86

Figura 5 – Imunomarcção de IL-1beta na região de furca. (A) Gráfico mostrando as médias $\pm$ desvios padrão da densidade de imunomarcção de IL-1beta para cada grupo e período. Testes estatísticos: ANOVA e Tukey ($p \leq 0,05$). Símbolos: ¶, diferença estatisticamente significativa com ST/LT no mesmo período ($p \leq 0,05$); *, diferença estatisticamente significativa com RAR/LT no mesmo período ($p \leq 0,05$); α , diferença estatisticamente significativa com RAR/SS no mesmo período ($p \leq 0,05$); σ , diferença estatisticamente significativa com RAR/LT 7 dias ($p \leq 0,05$) (B-F) fotomicrografias representativas da densidade de imunomarcção para IL-1beta em cada grupo e período. Barras de escala: 100 μ m.

87

Figura 6 –Imunomarcção de IL-10 na região de furca. (A) Gráfico mostrando as médias $\pm$ desvios padrão da densidade de imunomarcção de IL-10 para cada grupo e período. Testes estatísticos: ANOVA e Tukey ($p \leq 0.05$). Símbolos: ¶, diferença estatisticamente significativa com ST/LT no mesmo período ($p \leq 0.05$); *, diferença estatisticamente significativa com RAR/LT no mesmo período ($p \leq 0.05$); α , diferença estatisticamente significativa com RAR/LT 7 dias no mesmo grupo ($p \leq 0.05$); σ , diferença estatisticamente significativa com RAR/SS 7 dias no mesmo grupo ($p \leq 0.05$). (B-F) fotomicrografias representativas da densidade de imunomarcção para IL-10 em cada grupo e período. Barras de escala: 100 μ m.

88

Figura 7 – Imunomarcção de OCN na região de furca. (A) Gráfico mostrando as médias $\pm$ desvios padrão da densidade de imunomarcção de OCN para cada grupo e período. Testes estatísticos: ANOVA e Tukey ($p \leq 0.05$). Símbolos: ¶, diferença estatisticamente significativa com ST/LT no mesmo período ($p \leq 0.05$); *, diferença estatisticamente significativa com RAR/LT no mesmo período ($p \leq 0.05$). (B-F) fotomicrografias representativas da densidade de imunomarcção para OCN em cada grupo e período. Barras de escala: 100 μ m.

89

Figura 8 – Imunomarcção de TRAP na região de furca. (A) Gráfico mostrando as médias $\pm$ desvios padrão do número de células TRAP-positivas para cada grupo e período. Testes estatísticos: ANOVA e Tukey ($p \leq 0.05$). Símbolos: σ , diferença estatisticamente significativa com o período de 15 dias ($p \leq 0.05$); ¶, diferença estatisticamente significativa com ST/LT no mesmo período ($p \leq 0.05$); *, diferença estatisticamente significativa com o grupo RAR/SS e ST/SS no mesmo período ($p \leq 0.05$); α , diferença estatisticamente significativa com os grupos ST/SS e ST/LT no mesmo período ($p \leq 0.05$). (B-F) fotomicrografias representativas da imunomarcção para TRAP em cada grupo e período. Cabeças de seta: células imunorreativas para TRAP. Contra-coloração: Hematoxilina de Harris. Barras de escala: 100 μ m.

90

Lista de tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Parâmetros, escores e distribuição dos espécie de acordo com a análise histopatológica dos tecidos periodontais na região de furca do primeiro molar inferior nos diferentes grupos ST-SS, ST-LT, RAR-SS e RAR-LT:	81
-----------------	--	----

Lista de siglas

LISTA DE SIGLAS

°C	Graus Celsius
AF	Área total de furca
AO	Área ocupada por osso
ARRIVE	Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments
BMP-2	Proteína óssea morfogenética 2
CAT	Carotenóide
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
g	Gramas
HE	Hematoxilina e eosina
IL-12	Interleucina 12
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
kg	Quilo
LPS	Lipopolissacarídeo
LT	Luteína
mg	Miligrama
ml	Mililitros
MMP-1	Metaloproteinase da matriz 1
mRNA	RNA mensageiro
NC3Rs	NC3Rs Reporting Guidelines Working Group
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NOS1	Óxido nítrico sintase induzível
OCN	Osteocalcina
PE	Periodontite experimental
PE2	Prostaglandina E2
POF	Porcentagem de osso na furca
PQM-1	Proteína quimioatraente de monócitos 1
RANKL	Ativador do receptor do ligante do fator nuclear kappa-B
RAR	Raspagem e alisamento radicular

SS	Solução salina
ST	Sem tratamento
TM	Terapia modulatória
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VE	Veículo
μm	Micrômetro

Sumário

Sumário

<i>Manuscrito para publicação</i>	32
1. Introdução	38
2. Material e métodos	43
2.1 Animais	43
2.2 Cálculo amostral e randomização	43
2.3 Grupos experimentais	44
2.4 Indução da periodontite experimental	45
2.5 Protocolo de suplementação com LT ou administração da SS	45
2.6 Protocolo de tratamento com RAR	45
2.7 Eutanásia	46
2.8 Processamento histológico com desmineralização	46
2.9 Processamento imunoistoquímico	46
2.10 Análise histométrica de POF	47
2.11 Análise histopatológica	48
2.12 Análise imunoistoquímica	48
2.13 Desfecho primário e secundários	49
2.14 Análise estatística	49
3 Resultados	51
3.1 Análise histométrica da porcentagem de osso na furca (POF)	51
3.2 Análise histológica da região de furca	51
3.2.1 Análise histológica da região de furca do grupo ST/SS	51
3.2.2 Análise histológica da região de furca do grupo ST/LT	52
3.2.3 Análise histológica da região de furca do grupo RAR/SS	53
3.2.4 Análise histológica da região de furca do grupo RAR/LT	53
3.3 Análise imunoistoquímica	54
3.3.1 TNF- α	54
3.3.2 IL-1beta	55
3.3.3 IL-10	56
3.3.4 OCN	57
3.3.5 TRAP	57
4. Discussão	60
5. Conclusão	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

<i>Tabelas</i>	79
<i>Figuras</i>	82
ANEXOS	92
Anexo A – Normas para publicação no Periódico “Archives Oral Biology”.	92
Anexo B – Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal	107
Anexo C – Certificado de análise da luteína	108
Anexo D – Certificado de análise do óleo de girassol	109

5. Conclusão

Dentro dos limites do presente estudo podemos concluir que a suplementação sistêmica com LT reduziu a progressão da PE, controlando a resposta inflamatória local e quando a LT foi associada a RAR, reduziu a inflamação na área de furca apresentando maior POF quando comparado com os demais grupos de RAR, mostrando ser uma terapia coadjuvante segura aos tecidos periodontais e promissora para o tratamento da doença periodontal.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Algan AH, Gungor-Ak A, Karatas A. Nanoscale Delivery Systems of Lutein: An Updated Review from a Pharmaceutical Perspective. *Pharmaceutics*, 2022, 14(9), 1852.
- Abe, T., & Hajishengallis, G. (2013). Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *Journal of immunological methods*, 394(1-2), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2013.05.002>
- Age-Related Eye Disease Study Research Group. (2000). Risk factors associated with age-related macular degeneration. A case-control study in the age-related eye disease study: Age-Related Eye Disease Study Report Number 3. *Ophthalmology*, 107(12), 2224–2232. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(00\)00409-7](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(00)00409-7)
- Age-Related Eye Disease Study Research Group, SanGiovanni, J. P., Chew, E. Y., Clemons, T. E., Ferris, F. L., 3rd, Gensler, G., Lindblad, A. S., Milton, R. C., Seddon, J. M., & Sperduto, R. D. (2007). The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 22. *Archives of Ophthalmology*, 125(9), 1225–1232. <https://doi.org/10.1001/archophth.125.9.1225>
- Arora, N., Avula, H., & Avula, J. K. (2013). The adjunctive use of systemic antioxidant therapy (lycopene) in nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a short-term evaluation. *Quintessence International*, 44(6), 395–405. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a29188>
- Aune, D., Chan, D. S. M., Vieira, A. R., Navarro Rosenblatt, D. A., Vieira, R., Greenwood, D. C., & Norat, T. (2012). Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(2), 356–373. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.034165>
- Balci Yuce, H., Lektemur Alpan, A., Gevrek, F., & Toker, H. (2018). Investigation of the effect of astaxanthin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 53(1), 131–138. <https://doi.org/10.1111/jre.12497>
- Bartold, P. M., & Van Dyke, T. E. (2013). Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts: Unlearning learned concepts. *Periodontology 2000*, 62(1), 203–217. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2012.00450.x>
- Bernstein, P. S., Li, B., Vachali, P. P., Gorusupudi, A., Shyam, R., Henriksen, B. S., & Nolan, J. M. (2016). Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Progress in Retinal and Eye Research*, 50, 34–66. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2015.10.003>

- Bezerra, M. M., de Lima, V., Alencar, V. B., Vieira, I. B., Brito, G. A., Ribeiro, R. A., & Rocha, F. A. (2000). Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*, 71(6), 1009–1014. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.6.1009>
- Buduneli, N. (2020). *Biomarkers in periodontal health and disease: Rationale, benefits, and future directions*. Springer International Publishing.
- Caton, J. G., Ciancio, S. G., Blieden, T. M., Bradshaw, M., Crout, R. J., Hefti, A. F., Massaro, J. M., Polson, A. M., Thomas, J., & Walker, C. (2000). Treatment with subantimicrobial dose doxycycline improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis. *Journal of Periodontology*, 71(4), 521–532. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.4.521>
- Chapple, I. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 24(5), 287–296. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1997.tb00760.x>
- Chava, V. K., & Vedula, B. D. (2013). Thermo-reversible green tea catechin gel for local application in chronic periodontitis: a 4-week clinical trial. *Journal of Periodontology*, 84(9), 1290–1296. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120425>
- Chetan, P., Tonmoy, G., Basil, G., Imran, P., Rahulkumar, M., Kaumeel, C., Ghosh, A., & Mishra, S. (2016). Microalgal carotenoids: Potential nutraceutical compounds with chemotaxonomic importance. *Algal Research*, 15, 24–31.
- Chong, E. W.-T., Wong, T. Y., Kreis, A. J., Simpson, J. A., & Guymer, R. H. (2007). Dietary antioxidants and primary prevention of age related macular degeneration: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 335(7623), 755. <https://doi.org/10.1136/bmj.39350.500428.47>
- Chung, R. W. S., Leanderson, P., Lundberg, A. K., & Jonasson, L. (2017). Lutein exerts anti-inflammatory effects in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 262, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.05.008>
- Claudino, M., Garlet, T. P., Cardoso, C. R. B., de Assis, G. F., Taga, R., Cunha, F. Q., Silva, J. S., & Garlet, G. P. (2010). Down-regulation of expression of osteoblast and osteocyte markers in periodontal tissues associated with the spontaneous alveolar bone loss of interleukin-10 knockout mice. *European Journal of Oral Sciences*, 118(1), 19–28. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2009.00706.x>
- Dai, Z., Wang, R., Ang, L.-W., Low, Y.-L., Yuan, J.-M., & Koh, W.-P. (2014). Protective effects of dietary carotenoids on risk of hip fracture in men: the Singapore Chinese Health Study: Dietary carotenoids in relation to hip fracture risk in men. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 29(2), 408–417. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2041>
- Darveau, R. P., Hajishengallis, G., & Curtis, M. A. (2012). Porphyromonas gingivalis as a potential community activist for disease. *Journal of Dental Research*, 91(9), 816–820. <https://doi.org/10.1177/0022034512453589>

- de Almeida, J. M., Marques, B. M., Novaes, V. C. N., de Oliveira, F. L. P., Matheus, H. R., Fiorin, L. G., & Ervolino, E. (2019). Influence of adjuvant therapy with green tea extract in the treatment of experimental periodontitis. *Archives of Oral Biology*, 102, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.03.028>
- de Almeida, J. M., Theodoro, L. H., Bosco, A. F., Nagata, M. J. H., Bonfante, S., & Garcia, V. G. (2008). Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. *Journal of Periodontology*, 79(11), 2156–2165. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.080103>
- de Almeida, J. M., Theodoro, L. H., Bosco, A. F., Nagata, M. J. H., Oshiiwa, M., & Garcia, V. G. (2007). Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*, 78(3), 566–575. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060214>
- de Molon, R. S., Park, C. H., Jin, Q., Sugai, J., & Cirelli, J. A. (2018). Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. Microscopy research and technique, 81(12), 1412–1421. <https://doi.org/10.1002/jemt.23101>
- Dodington, D. W., Fritz, P. C., Sullivan, P. J., & Ward, W. E. (2015). Higher intakes of fruits and vegetables, β -carotene, vitamin C, α -tocopherol, EPA, and DHA are positively associated with periodontal healing after nonsurgical periodontal therapy in nonsmokers but not in smokers. *The Journal of Nutrition*, 145(11), 2512–2519. <https://doi.org/10.3945/jn.115.211524>
- Du, S.-Y., Zhang, Y.-L., Bai, R.-X., Ai, Z.-L., Xie, B.-S., & Yang, H.-Y. (2015). Lutein prevents alcohol-induced liver disease in rats by modulating oxidative stress and inflammation. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(6), 8785–8793.
- Dumitrescu, A. L., Abd-El-Aleem, S., Morales-Aza, B., & Donaldson, L. F. (2004). A model of periodontitis in the rat: effect of lipopolysaccharide on bone resorption, osteoclast activity, and local peptidergic innervation. *Journal of clinical periodontology*, 31(8), 596–603. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00528.x>
- Ek-Rylander, B., Flores, M., Wendel, M., Heinegård, D., & Andersson, G. (1994). Dephosphorylation of osteopontin and bone sialoprotein by osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase. Modulation of osteoclast adhesion in vitro. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(21), 14853–14856. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)36541-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)36541-9)
- Fernández-Sevilla JM, Acien Fernández FG, Molina Grima E. Biotechnological production of lutein and its applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 2010, 86(1), 27–40.
- Gallop, P. M., Lian, J. B., & Hauschka, P. V. (1980). Carboxylated calcium-binding proteins and vitamin K. *The New England Journal of Medicine*, 302(26), 1460–1466. <https://doi.org/10.1056/NEJM198006263022608>

- Gao, L., Faibish, D., Fredman, G., Herrera, B. S., Chiang, N., Serhan, C. N., Van Dyke, T. E., & Gyurko, R. (2013). Resolvin E1 and chemokine-like receptor 1 mediate bone preservation. *The Journal of Immunology*, 190(2), 689–694. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103688>
- Gao, L. N., An, Y., Lei, M., Li, B., Yang, H., Lu, H., Chen, F. M., & Jin, Y. (2013). The effect of the coumarinlike derivative osthole on the osteogenic properties of human periodontal ligament and jaw bone marrow mesenchymal stem cell sheets. *Biomaterials*, 34(38), 9937–9951.
- Garcia, V. G., Gualberto Júnior, E. C., Fernandes, L. A., Bosco, A. F., Hitomi Nagata, M. J., Casatti, C. A., Ervolino, E., & Theodoro, L. H. (2013). Adjunctive antimicrobial photodynamic treatment of experimentally induced periodontitis in rats with ovariectomy. *Journal of Periodontology*, 84(4), 556–565. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120163>
- Golub, L. M., Lee, H. M., Lehrer, G., Nemiroff, A., McNamara, T. F., Kaplan, R., & Ramamurthy, N. S. (1983). Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. Preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *Journal of Periodontal Research*, 18(5), 516–526. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1983.tb00388.x>
- Graves, D. T., Fine, D., Teng, Y.-T. A., Van Dyke, T. E., & Hajishengallis, G. (2008). The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases: Rodent models for periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(2), 89–105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2007.01172.x>
- Grainger EM, Webb MZ, Simpson CM, Chitchumroonchokchai C, Riedl K, Moran NE, Clinton, SK. Assessment of dietary carotenoid intake and biologic measurement of exposure in humans. *Methods in enzymology*, 2022, 674, 255–295.
- Habermann, B., Eberhardt, C., Feld, M., Zichner, L., & Kurth, A. A. (2007). Tartrate-resistant acid phosphatase 5b (TRAP 5b) as a marker of osteoclast activity in the early phase after cementless total hip replacement. *Acta Orthopaedica*, 78(2), 221–225. <https://doi.org/10.1080/17453670710013717>
- Hasturk, H., Kantarci, A., Goguet-Surmenian, E., Blackwood, A., Andry, C., Serhan, C. N., & Van Dyke, T. E. (2007). Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis in vivo. *The Journal of Immunology*, 179(10), 7021–7029. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.10.7021>
- Hauschka, P. V., Lian, J. B., Cole, D. E., & Gundberg, C. M. (1989). Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiological Reviews*, 69(3), 990–1047. <https://doi.org/10.1152/physrev.1989.69.3.990>
- Hayman, A. R. (2008). Tartrate - resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cell dichotomy. *Autoimmunity*, 41(3), 218–223.
- Hirata, N., Ichimaru, R., Tominari, T., Matsumoto, C., Watanabe, K., Taniguchi, K., Hirata, M., Ma, S., Suzuki, K., Grundler, F., Miyaura, C., & Inada, M. (2019). Beta-

- cryptoxanthin inhibits lipopolysaccharide-induced osteoclast differentiation and bone resorption via the suppression of inhibitor of NF- κ B kinase activity. *Nutrients*, 11(2), 368. <https://doi.org/10.3390/nu11020368>
- Holzhausen, M., Rossa Júnior, C., Marcantonio Júnior, E., Nassar, P. O., Spolidório, D. M. P., & Spolidório, L. C. (2002). Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*, 73(9), 1030–1036. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.9.1030>
- Hwang, Y.-H., Kim, K.-J., Kim, S.-J., Mun, S.-K., Hong, S.-G., Son, Y.-J., & Yee, S.-T. (2018). Suppression effect of astaxanthin on osteoclast formation in vitro and bone loss in vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 912. <https://doi.org/10.3390/ijms19030912>
- Johnson, I. H. (1975). Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *Journal of Periodontal Research*, 10(6), 332–345. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1975.tb00042.x>
- Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research*, 93(11), 1045–1053. <https://doi.org/10.1177/0022034514552491>
- Lin JH, Lee DJ, Chang JS. Lutein production from biomass: marigold flowers versus microalgae. *Bioresource technology*, 2015, 184, 421–428.
- Kilkenny, C., Browne, W., Cuthill, I. C., Emerson, M., & Altman, D. G. (2010). Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. *The Journal of Gene Medicine*, 12(7), 561–563. <https://doi.org/10.1002/jgm.1473>
- Kim, J.-H., Na, H.-J., Kim, C.-K., Kim, J.-Y., Ha, K.-S., Lee, H., Chung, H.-T., Kwon, H. J., Kwon, Y.-G., & Kim, Y.-M. (2008). The non-provitamin A carotenoid, lutein, inhibits NF-kappaB-dependent gene expression through redox-based regulation of the phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/Akt and NF-kappaB-inducing kinase pathways: role of H(2)O(2) in NF-kappaB activation. *Free Radical Biology & Medicine*, 45(6), 885–896. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.06.019>
- King, T. W., Brey, E. M., Youssef, A. A., Johnston, C., & Patrick, C. W. (2002). Jr Quantification of vascular density using a semiautomated technique for immunostained specimens. *Anal. Quant. Cytol. Histol*, 24, 39–48.
- Klausen, B. (1991). Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: A review article. *Journal of Periodontology*, 62(1), 59–73. <https://doi.org/10.1902/jop.1991.62.1.59>
- Kose, O., Arabaci, T., Yemenoglu, H., Kara, A., Ozkanlar, S., Kayis, S., & Duymus, Z. (2016). Influences of fucoxanthin on alveolar bone resorption in induced periodontitis in rat molars. *Marine Drugs*, 14(4), 70. <https://doi.org/10.3390/md14040070>

- Kou, Y., Inaba, H., Kato, T., Tagashira, M., Honma, D., Kanda, T., Ohtake, Y., & Amano, A. (2008). Inflammatory responses of gingival epithelial cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis* vesicles are inhibited by hop-associated polyphenols. *Journal of Periodontology*, 79(1), 174–180. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.070364>
- Krinsky, N. I., & Johnson, E. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(6), 459–516. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.10.001>
- Kuhr, A., Popa-Wagner, A., Schmoll, H., Schwahn, C., & Kocher, T. (2004). Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *Journal Of Periodontal Research*, 39(2), 101–106. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2004.00710.x>
- Li, H., Huang, C., Zhu, J., Gao, K., Fang, J., & Li, H. (2018). Lutein suppresses oxidative stress and inflammation by Nrf2 activation in an osteoporosis rat model. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 24, 5071–5075. <https://doi.org/10.12659/msm.908699>
- Lim, S. S., Allen, K., Bhutta, Z. A., Dandona, L., Forouzanfar, M. H., Fullman, N., Gething, P. W., Goldberg, E. M., Hay, S. I., Holmberg, M., Kinfu, Y., Kutz, M. J., Larson, H. J., Liang, X., Lopez, A. D., Lozano, R., McNellan, C. R., Mokdad, A. H., Mooney, M. D., ... Murray, C. J. L. (2016). Measuring the health-related Sustainable Development Goals in 188 countries: a baseline analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 388(10053), 1813–1850. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)31467-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)31467-2)
- Mangels, A. R., Holden, J. M., Beecher, G. R., Forman, M. R., & Lanza, E. (1993). Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *Journal of the American Dietetic Association*, 93(3), 284–296. [https://doi.org/10.1016/0002-8223\(93\)91553-3](https://doi.org/10.1016/0002-8223(93)91553-3)
- Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*, 74(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- Matsumoto, C., Ashida, N., Yokoyama, S., Tominari, T., Hirata, M., Ogawa, K., Sugiura, M., Yano, M., Inada, M., & Miyaura, C. (2013). The protective effects of β -cryptoxanthin on inflammatory bone resorption in a mouse experimental model of periodontitis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(4), 860–862. <https://doi.org/10.1271/bbb.120791>
- Nidhi, B., Sharavana, G., Ramaprasad, T. R., & Vallikannan, B. (2015). Lutein derived fragments exhibit higher antioxidant and anti-inflammatory properties than lutein in lipopolysaccharide induced inflammation in rats. *Food & Function*, 6(2), 450–460. <https://doi.org/10.1039/c4fo00606b>
- Nishigaki, M., Yamamoto, T., Ichioka, H., Honjo, K.-I., Yamamoto, K., Oseko, F., Kita, M., Mazda, O., & Kanamura, N. (2013). β -cryptoxanthin regulates bone resorption related-cytokine production in human periodontal ligament cells. *Archives of Oral Biology*, 58(7), 880–886. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.01.005>

- Noiri, Y., & Ebisu, S. (2000). Identification of periodontal disease-associated bacteria in the “plaquefree zone”. *J Periodontol*, 71(8), 1319–1326.
- Nowwarote, N., Osathanon, T., Jitjaturunt, P., Manopattanasoontorn, S., & Pavasant, P. (2013). Asiaticoside induces type I collagen synthesis and osteogenic differentiation in human periodontal ligament cells: ASIATICOSIDE INDUCES DIFFERENTIATION OF HPDLs. *Phytotherapy Research: PTR*, 27(3), 457–462. <https://doi.org/10.1002/ptr.4742>
- Oz, H. S., & Puleo, D. A. (2011). Animal models for periodontal disease. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2011, 754857. <https://doi.org/10.1155/2011/754857>
- Parker, R. S. (1989). Carotenoids in human blood and tissues. *The Journal of Nutrition*, 119(1), 101–104. <https://doi.org/10.1093/jn/119.1.101>
- Pelekos, G., Ho, S. N., Acharya, A., Leung, W. K., & McGrath, C. (2019). A double-blind, paralleled-arm, placebo-controlled and randomized clinical trial of the effectiveness of probiotics as an adjunct in periodontal care. *Journal of Clinical Periodontology*, 46(12), 1217–1227. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13191>
- Perry, A., Rasmussen, H., & Johnson, E. J. (2009). Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *Journal of Food Composition and Analysis: An Official Publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems*, 22(1), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.006>
- Philips, N., Keller, T., Hendrix, C., Hamilton, S., Arena, R., Tuason, M., & Gonzalez, S. (2007). Regulation of the extracellular matrix remodeling by lutein in dermal fibroblasts, melanoma cells, and ultraviolet radiation exposed fibroblasts. *Archives of Dermatological Research*, 299(8), 373–379. <https://doi.org/10.1007/s00403-007-0779-0>
- Polyakov, N. E. (2001). Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? *Free Radical Biol. Med.*, v, 31, 398–404.
- Prates, R. A., Yamada, A. M., Suzuki, L. C., França, C. M., Cai, S., Mayer, M. P. A., Ribeiro, A. C., & Ribeiro, M. S. (2011). Histomorphometric and microbiological assessment of photodynamic therapy as an adjuvant treatment for periodontitis: a short-term evaluation of inflammatory periodontal conditions and bacterial reduction in a rat model. *Photomedicine and Laser Surgery*, 29(12), 835–844. <https://doi.org/10.1089/pho.2010.2984>
- Qiao, Y.-Q., Jiang, P.-F., & Gao, Y.-Z. (2018). Lutein prevents osteoarthritis through Nrf2 activation and downregulation of inflammation. *Archives of medical science: AMS*, 14(3), 617–624. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.59871>
- Reddy, M. S., Weatherford, T. W., 3rd, Smith, C. A., West, B. D., Jeffcoat, M. K., & Jacks, T. M. (1995). Alendronate treatment of naturally-occurring periodontitis in beagle

- dogs. *Journal of Periodontology*, 66(3), 211–217.
<https://doi.org/10.1902/jop.1995.66.3.211>
- Reddy, Michael S., Geurs, N. C., & Gunsolley, J. C. (2003). Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8(1), 12–37.
<https://doi.org/10.1902/annals.2003.8.1.12>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods* (Vol. 64). ILSI - International Life Sciences Institute.
- Sanz, M., Bighton, D., Curtis, M. A., Cury, J. A., Dige, I., Dommisch, H., Ellwood, R., Giacaman, R. A., Herrera, D., Herzberg, M. C., Könönen, E., Marsh, P. D., Meyle, J., Mira, A., Molina, A., Mombelli, A., Quirynen, M., Reynolds, E. C., Shapira, L., & Zaura, E. (2017). Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 44, S5–S11.
<https://doi.org/10.1111/jcpe.12682>
- Seibel, M. J. (2000). Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. *Osteoporosis International: A Journal Established as Result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 11 Suppl 6, S18–29.
<https://doi.org/10.1007/s001980070003>
- Shoji, K., Horiuchi, H., & Shinoda, H. (1995). Inhibitory effects of a bisphosphonate (risedronate) on experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontal Research*, 30(4), 277–284. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1995.tb02134.x>
- Sindhu, E. R., & Kuttan, R. (2012). Carotenoid lutein protects rats from gastric ulcer induced by ethanol. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 23(1), 33–37. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2011-0032>
- Sindhu, E. R., Preethi, K. C., & Kuttan, R. (2010). Antioxidant activity of carotenoid lutein in vitro and in vivo. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48(8), 843–848.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000, 38(1), 135–187. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x>
- Sommerburg, O., Keunen, J. E., Bird, A. C., & van Kuijk, F. J. (1998). Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *The British Journal of Ophthalmology*, 82(8), 907–910.
<https://doi.org/10.1136/bjo.82.8.907>
- Takeda, H., Tominari, T., Hirata, M., Watanabe, K., Matsumoto, C., Grundler, F. M. W., Inada, M., & Miyaura, C. (2017). Lutein enhances bone mass by stimulating bone formation and suppressing bone resorption in growing mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 40(5), 716–721. <https://doi.org/10.1248/bpb.b16-00897>

- Tan, J. S. L., Wang, J. J., Flood, V., Rochtchina, E., Smith, W., & Mitchell, P. (2008). Dietary antioxidants and the long-term incidence of age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*, 115(2), 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2007.03.083>
- Teles, R. P., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2006). Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 42(1), 180–218. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00192.x>
- Teughels, W., Durukan, A., Ozcelik, O., Pauwels, M., Quirynen, M., & Haytac, M. C. (2013). Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(11), 1025–1035. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12155>
- Tominari, T., Matsumoto, C., Watanabe, K., Hirata, M., Grundler, F. M. W., Inada, M., & Miyaura, C. (2017). Lutein, a carotenoid, suppresses osteoclastic bone resorption and stimulates bone formation in cultures. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(2), 302–306. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1243983>
- Umeda, M., Takeuchi, Y., Noguchi, K., Huang, Y., Koshy, G., & Ishikawa, I. (2004). Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. *Periodontology 2000*, 36(1), 98–120. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2004.03675.x>
- Vargas-Sanchez, P. K., Moro, M. G., Santos, F. A. dos, Anbinder, A. L., Kreich, E., Moraes, R. M., Padilha, L., Kusiak, C., Scomparin, D. X., & Franco, G. C. N. (2017). Agreement, correlation, and kinetics of the alveolar bone-loss measurement methodologies in a ligature-induced periodontitis animal model. *Journal of applied oral science*, 25(5), 490–497. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0517>
- Williams, R. C. (1990). Periodontal disease. *The New England Journal of Medicine*, 322(6), 373–382. <https://doi.org/10.1056/nejm199002083220606>
- Yoshinaga, Y., Ukai, T., Nakatsu, S., Kuramoto, A., Nagano, F., Yoshinaga, M., Montenegro, J. L., Shiraishi, C., & Hara, Y. (2014). Green tea extract inhibits the onset of periodontal destruction in rat experimental periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 49(5), 652–659. <https://doi.org/10.1111/jre.12147>
- Zhang, Q., Chen, B., Yan, F., Guo, J., Zhu, X., Ma, S., & Yang, W. (2014). Interleukin-10 inhibits bone resorption: A potential therapeutic strategy in periodontitis and other bone loss diseases. *BioMed Research International*, 2014, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2014/284836>
- Zhang, W., Ju, J., Rigney, T., & Tribble, G. (2014). *Porphyromonas gingivalis* infection increases osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation in a periodontitis mouse model. *BMC Oral Health*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1472-6831-14-89>
- Zhang, Z.-Q., Cao, W.-T., Liu, J., Cao, Y., Su, Y.-X., & Chen, Y.-M. (2016). Greater serum carotenoid concentration associated with higher bone mineral density in Chinese adults. *Osteoporosis International: A Journal Established as Result of Cooperation*

between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA, 27(4), 1593–1601. <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3425-2>

Zoch, M. L., Clemens, T. L., & Riddle, R. C. (2016). New insights into the biology of osteocalcin. *Bone*, 82, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.05.046>