

TREINAMENTO FÍSICO COMO ESTRATÉGIA REDUTORA DE PERDA ÓSSEA ALVEOLAR: ANÁLISE BIOQUÍMICA, IMUNO-HISTOQUÍMICA E MICROTOMOGRÁFICA

Railson de Oliveira FERREIRA

FERREIRA, Railson de Oliveira. **Treinamento físico como estratégia redutora de perda óssea alveolar: análise bioquímica, imuno-histoquímica e microtomográfica.** Projeto de investigação científica, do Curso de Odontologia – Centro Universitário Fibrá, Belém, 2020.

O objetivo deste estudo foi investigar a influência da atividade física/treinamento físico em um modelo experimental de periodontite induzida. A atividade física é definida como qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que exigem um aumento do gasto energético maior em comparação com níveis basais. Lazer, trabalho, esportes, transporte ativo são incluídos como exemplos de atividade física (CHODZKO-ZAJKO *et al.*, 2009; GARBER *et al.*, 2011). O exercício é uma atividade planejada e estruturada que tem como principal objetivo melhorar as capacidades do corpo, de acordo com as variáveis metodológicas do treinamento físico, como: volume, intensidade, frequência e tipo de exercício. Tal

atividade praticada regularmente aumenta diversas capacidades físicas em aspectos gerais da saúde humana (GARBER *et al.*, 2011). A atividade física tem sido relacionada à melhora da cognição (FERNANDES, RAFAEL *et al.*, 2018), ao aumento da propriocepção (SALLES *et al.*, 2018), à capacidade pulmonar (MCNAMARA *et al.*, 2018), à manutenção da fisiologia cardiovascular, à redução de gordura corporal e a outras doenças sistêmicas. A interação entre exercício físico e doenças sistêmicas, principalmente distúrbios inflamatórios, ainda não são claramente entendidos; no entanto, a modulação de marcadores imunológicos tem sido postulada como o principal mecanismo envolvido (GLEESON *et al.*, 2011). O exercício tem sido associado a mudanças em marcadores inflamatórios, incluindo uma redução dos níveis de proteína C reativa (MALALI *et al.*, 2010; FERNANDES *et al.*, 2018). O aumento da expressão dessa proteína está relacionado a várias doenças, incluindo a periodontal (BECK *et al.*, 2018). A periodontite é considerada uma doença inflamatória de aspecto multifatorial ocasionando danos aos tecidos de inserção dental (gengiva, cemento, ligamento periodontal e osso alveolar) (OPPERMANN *et al.*, 2015). É a segunda doença

oral mais prevalente em humanos, uma vez que 70% da população global apresenta um ou mais sinais clínicos de inflamação nos tecidos periodontais de suporte, que incluem: gengiva, ligamento periodontal e osso alveolar (OPPERMANN *et al.*, 2015). A doença periodontal tem etiologia multifatorial com um perfil inflamatório significativo e é produto da interação entre patógenos bacterianos, resposta do hospedeiro e os hábitos de saúde individuais (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2015; PAPAPANOU *et al.*, 2018). Em caso de gengivite, sinais e sintomas, como sangramento durante o uso do fio dental, halitose e inchaço, são restritos à gengiva marginal. Quando os sinais inflamatórios compreendem tecidos mais profundos, como: sangramento gengival, recessão gengival, dente mobilidade, destruição do ligamento periodontal, osso alveolar reabsorção e, finalmente, perda dentária; periodontite está presente (PAPAPANOU *et al.*, 2018). Os fatores individuais dos hospedeiros, a microbiota oral e doenças crônicas também podem atuar como modificadores da doença periodontal, uma vez que a placa dentária representa apenas 20% do risco de desenvolvimento da doença (LANG; BARTOLD, 2018). A

piora da doença periodontal pode também resultar em inflamação crônica e sistêmica, que é um conceito já sugerido por outros estudos que avaliaram os aspectos inflamatórios de diferentes doenças (POTEMPA *et al.*, 2017; TEIXEIRA *et al.*, 2017), em um possível mecanismo recíproco. Procedimentos para melhorar os cuidados profissionais e os pessoais podem levar a possíveis terapias para a periodontite. O exercício físico, por induzir alterações fisiológicas e bioquímicas, pode ser visto como uma intervenção para auxílio no tratamento dos danos no tecido de inserção dental (LANG; BARTOLD, 2018). No entanto, não está claro o relacionamento entre ambas. O biofilme é considerado o agente etiológico primário das doenças periodontais. Dentre os tratamentos para a doença periodontal, o desbridamento mecânico do biofilme sobre as superfícies dentárias, acompanhamento de possíveis alterações sistêmicas e mudança dos hábitos relacionados a higiene bucal são elementos preponderantes na redução dos sinais e sintomas clínicos, assim como na manutenção do estado de saúde (HEITZ-MAYFIELD e LANG, 2013). Dentre as doenças sistêmicas comumente conhecidas, o diabetes é reportado como um fator modificador da doença periodontal (PRESHAW *et al.*,

2012). Pacientes que apresentam altos níveis glicêmicos têm de duas a seis vezes mais chances de evoluir para um quadro severo da periodontite (TSAI *et al.*, 2002), cujo tratamento envolve aspectos interligados ao quadro de saúde geral do paciente envolvendo médico, dentista, nutricionista, educador físico, entre outros. Outras doenças sistêmicas que têm sido associadas à periodontite são as cardiovasculares (LOCKHART *et al.*, 2012). As doenças isquêmicas cardíacas; as cerebrovasculares; e as vasculares de artérias, arteríolas, capilares, consistem de um processo inflamatório longo, caracterizado por episódios de agudização como as síndromes agudas coronarianas, infarto do miocárdio e os acidentes vasculares encefálicos (LOCKHART *et al.*, 2012). Potenciais relações entre a periodontite e as doenças cardiovasculares envolvem mecanismos diretos e indiretos. Dentre os mecanismos diretos, a bacteremia com decorrente infecção vascular é uma das hipóteses de associação. Mais de 275 espécies são reportadas na cavidade bucal e a bacteremia é um processo que comumente ocorre na mastigação e escovação, principalmente em casos de periodontite (LOCKHART *et al.*, 2012). Patógenos periodontais como a *Porphyromonas*

gingivalis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* são relacionados a uma possível infecção vascular endotelial e repercutem na formação de ateromas. Dentre os mecanismos indiretos, a inflamação sistêmica perpetuada pelos mediadores inflamatórios da periodontite está associada a eventos como o infarto agudo do miocárdio, o AVE isquêmico e o aumento da espessura da íntima carotídea. Os marcadores inflamatórios são a proteína C reativa, IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , os quais são responsáveis pela resposta inflamatória que promoverá a perda de inserção dos tecidos periodontais (MALALI *et al.*, 2010; TOKER *et al.*, 2018). Além do tratamento padrão para a periodontite, medidas que possibilitem a redução dos fatores de risco para a inflamação sistêmica são recomendáveis para prevenção da progressão ou recidiva (SANZ *et al.*, 2020). Como fator etiológico primário, os biofilmes microbianos, principalmente bactérias gram-negativas, são os principais contribuintes para o desenvolvimento de doenças periodontais (EBERSOLE *et al.*, 2017). O desenvolvimento da doença periodontal também depende de fatores externos ao biofilme, como a resposta imune do hospedeiro, fatores genéticos e fatores

ambientais (hábitos e estilo de vida) (PAPAPANOU *et al.*, 2018; SANZ *et al.*, 2020). Um total de 48 Ratos albinos da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, de aproximadamente 150 -- 250g, machos (n = 48; 90 -- 120 dias de vida) foram obtidos do biotério central da UFPA e aclimatadas no Biotério do Laboratório de Neuroregeneração e Neurodegeneração Experimental (LNNE). Foram selecionados, dividindo-os em quatro grupos experimentais (Controle/Treinamento físico/Perda óssea induzida/Perda óssea induzida + Treinamento físico), mantidos em gaiolas de polipropileno (dimensões: 40 cm x 30 cm x 13 cm), em grupos de no máximo 4 por gaiola, em condições assépticas, com comida controlada (NUVITAL) e água ad libitum e sob condições de luz (ciclo claro/escuro de 12 horas) e temperatura ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$) controlada. Tal espécie se mostra viável e com diversos relatos na literatura assim como em nosso grupo de pesquisa (FERNANDES, 2015; TEIXEIRA, 2017). Para a análise bioquímica, também foi considerado um modelo de escolha. Os grupos foram divididos em uma disposição fatorial 2 x 2 (presença/ausência de treinamento físico e presença/ausência de periodontite induzida): Grupo sem treinamento, sem ligadura (ST SL/ n = 12): machos não

submetidos ao treinamento físico e periodontite induzida. Grupo com treinamento, sem ligadura (CT SL/ n = 12): machos que receberam treinamento 5 vezes por semana, com velocidade progressiva, por 4 semanas. Grupo sem treinamento, com ligadura (ST CL/ n = 12): machos que não receberam treinamento físico e submetidos à indução de perda óssea alveolar por ligadura em primeiros molares inferiores, a partir do 15º dia de experimento, ficando a ligadura até o 30º dia de experimento Grupo com treinamento, com ligadura (CT CL/ n = 12): machos que receberam treinamento 5 vezes por semana, com velocidade progressiva, por 4 semanas, associando o uso de ligadura em primeiros molares inferiores a partir do 14º dia de experimento, ficando a ligadura até o 30º dia de experimento. O cálculo amostral foi obtido de Andrade *et al.* 2018 (SD 0.13; Poder 80%, $\alpha = 5\%$) (ANDRADE *et al.*, 2018) a partir do desfecho primário relacionado ao nível de interleucina IL -- 1beta. O projeto foi submetido à Comissão de Ética com uso de Animais de Experimentais da UFPA. A aplicação de uma escala de treinabilidade foi realizada a fim de randomizar os grupos de maneira a equilibrar os animais segundo sua capacidade de treinamento. A escala é composta por uma avaliação ordinal de 1 a 5 de acordo

com as seguintes definições :1 - recusou-se a correr; 2 - corredor abaixo da média (esporádico, para e anda na direção errada); 3 - corredor médio (precisando de atenção constante e impulso pelo examinador que bate na parte posterior da esteira); 4 - corredor acima da média (corredor consistente e ocasionalmente cai para trás na esteira); e 5 - bom corredor (permaneceu consistentemente à frente, na esteira). A avaliação foi realizada em esteira motorizada para ratos (Master-One®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) na angulação de 0°, 5 minutos por dia, por 6 dias consecutivos, e por dois avaliadores treinados e cegos para o objetivo do estudo. A correlação dos resultados foi aplicada através do teste do teste Kappa, ponderado para avaliação de concordância inter-examinadores. Para verificar a capacidade de performance dos animais, após dois dias dos testes de treinabilidade, foi aplicado um teste de resistência (*endurance*) na esteira a 0°, numa velocidade de 16m/min. A resistência foi definida pelo tempo decorrido em minutos, antes da recusa de um animal ou de sua incapacidade de manter a posição no segmento frontal da esteira (terço anterior). Após uma semana de habituação no biotério e uma semana dos testes de treinabilidade e resistência, foi iniciado o treinamento físico segundo o

protocolo de Arida *et al.* (2007), adaptado por Lamarão-Vieira *et al.* (2019). O treinamento físico era interrompido caso ocorresse algum motivo relacionado à lesão acidental, fadiga (incapacidade de realizar, problemas comportamentais) e baixo desempenho causado pela falta de vontade do animal de fazer exercícios. Para colocação das ligaduras em primeiro molar inferior, os animais do Grupo sem treinamento, com ligadura (n = 12), e do Grupo com treinamento, com ligadura físico (n = 12) foram anestesiados por uma solução de mistura de cloridrato de cetamina (90 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (9 mg/Kg). Após a verificação de reflexos corneanos, foram posicionados em uma mesa de imobilização e mantidos com a cavidade oral aberta. Fios de algodão foram posicionados nos dentes avaliados e os animais foram devolvidos as suas respectivas gaiolas, sendo avaliados quanto à pesagem. Os animais foram divididos de acordo com os procedimentos em Animais para avaliação de perda óssea por lupa estereoscópica 24 hemimandíbulas (n = 6, grupo ST SL; n = 6 grupo CT SL; n = 6 grupo ST CL; e n = 6 grupo CT CL). Para as análises imunohistoquímicas, foram utilizadas 24 hemi-mandíbulas (n = 6, controle; n = 6 treinamento físico; n = 6 periodontite

induzida; e n = 6 periodontite induzida+ treinamento físico). Para as análises de bioquímica oxidativa do sangue, os 24 animais (n = 6, controle; n = 6 treinamento físico; n = 6 periodontite induzida; e n = 6 periodontite induzida + treinamento físico) foram avaliados para perda óssea por lupa estereoscópica e o sangue foi coletado para realização dos testes bioquímicos. Logo que ocorram a habituação dos animais (sete dias em biotério), foi padronizado o primeiro dia de experimento e ocorreu a pesagem. O pesquisador responsável fez o procedimento com uso de luvas. Os animais foram pesados a cada 7 dias, até o 30º dia de experimento. Encerrados os procedimentos de treinamento e corridos 12 horas do último treinamento, os 12 animais de cada grupo (ST SL, ST CL, CT SL, CT CL) foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (90 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (9 mg/Kg), e, após a ausência dos reflexos corneanos, foram perfundidos através do ventrículo esquerdo do coração com solução salina a 0,9%, heparinizada, seguida de paraformaldeído a 4%. Foi coletado o sangue por punção cardíaca e, posteriormente, realizado o recolhimento das amostras, sendo dos animais as mandíbulas retiradas. Após a dissecação gengival, as

hemi-mandíbulas foram imersas no hipoclorito de sódio a 6% por 4 horas. As amostras foram lavadas em água corrente e posteriormente colocadas na banheira ultrassônica com água destilada por 10 minutos. Para distinção da junção amelocementária, foram as mandíbulas imergidas em solução de azul de metileno a 1% por 1 minuto, lavando-as, em seguida, em água corrente. Para registrar as mensurações, as amostras de hemi-mandíbulas do lado direito (n = 48) foram fixadas em cera 9, em que o plano oclusal ficou paralelo e os eixos perpendiculares ao longo do estereomicroscópio (Stereo Microscópio Discovery.V8 Zeiss), com um aumento de 5 vezes na ocular em 10 vezes. A perda óssea alveolar foi determinada na superfície lingual dos primeiros molares pela distância da junção cimento esmalte a partir da crista óssea alveolar, medindo em dois locais equidistantes nas cúspides mesial e distal de cada hemi-mandíbula. As fotomicrografias das amostras foram obtidas por uma câmera 6.1 megapixel digital CANON (Power shot A640) acoplada ao estereomicroscópio, em um aumento de 3.2 vezes, para posterior análise microtomográfica. As hemi-mandíbulas do lado esquerdo (n = 48) foram fixadas em solução de formalínica a 10%. Em seguida foram

desmineralizadas em solução de EDTA por 45 -- 60 dias, sendo realizado o processamento e fixação em parafina para microtomia. Secções frontais (véstíbulo-linguais) e sagitais foram preparadas, considerando o posicionamento para análise do primeiro molar inferior. Cinco cortes consecutivos a 5 μ m foram posicionados em lâminas compreendendo as áreas interproximais de primeiro molar inferior. A avaliação da imunomarcagem foi realizada por meio da avaliação da medida da área (μ m) e da fração (%) de marcação das proteínas estudadas. Imagens de campo claro de pelo menos 6 áreas selecionadas aleatoriamente a partir de cada amostra foram adquiridas em microscópio Axio Scope (Carl Zeiss, Alemanha), equipado com uma câmara CCD a cores AxioCam HRC (Carl Zeiss). As imagens foram adquiridas com as mesmas ampliações (40x). Áreas coradas pela diaminobenzidina foram separadas e segmentadas usando o “deconvolution colorplug-in”. Foram utilizados os anticorpos: Anti-osteoprotegerina (1:200; Larry Fisher, NIDCR). Anti-RANK (1:1000; Clontech Laboratories Inc., Mountain View, CA); Anti-RANKL (1:50, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). Depois da segmentação de imagem, a área e a fração de coloração total foram

medidas. As diferenças de imunoexpressão encontradas foram analisadas e submetidas à análise estatística. Para a análise histológica, foi realizado o protocolo de avaliação de inflamação proposto por Azuma *et al.* (2017) com adaptações (AZUMA *et al.*, 2017). Os parâmetros de avaliação utilizados foram: natureza e extensão da inflamação, presença e extensão de reabsorção óssea, estado da vasculatura e padrão de celularidade dentária e tecidos periodontais da região interproximal. A intensidade da infiltração inflamatória foi graduada da seguinte forma: ausente (0 a poucas células inflamatórias: pontuação 1), leve (<25 células inflamatórias: pontuação 2), moderada (25 -- 125 células inflamatórias: pontuação 3) ou grave (> 125 células inflamatórias: pontuação 4). Para todos os grupos experimentais, a área da lesão interproximal associada com as regiões mesio-distais de 1º e 2º molares foi histometricamente medida. A área foi calculada estabelecendo o limite da lesão, considerando a superfície formada pelas junções cimento-esmalte de 1º e 2º molares até o nível da crista óssea interproximal expressa em micrômetros quadrados. Para cada rato, 7 seções histológicas em série foram medidas histometricamente usando um sistema de processamento de imagem, que

consiste em um microscópio de luz (DM 4000 B; Leica), uma câmera colorida (DFC 500; Leica, Wetzlar, Alemanha), um processador de imagens coloridas (Leica Software Qwin V3; Leica), o software ImageJ (software de domínio público, desenvolvido por Wayne Rasband (NIMH, NIH, Bethesda, MD, EUA, <http://rsbweb.nih.gov/ij/>) e um computador pessoal (Intel Core I5, Intel Corp, Santa Clara, CA; Windows 10, Microsoft Corp, Redmond, WA). Para que se realizasse uma avaliação tridimensional precisa, mas sem que ocorresse a destruição da amostra, a microtomografia computadorizada de raios-X (MicroCT.SMX-90 CT; Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) foi realizada devido a seus diversos parâmetros de avaliação disponíveis (PARK, CHAN HO *et al.*, 2007). Cada hemimandíbula foi montada em uma plataforma rotatória dentro do dispositivo, onde imagens foram feitas em uma rotação de 360°, com intensidade de 70kV e 100 mA. As imagens foram reconstruídas no programa de software inspeXio SMX-90CT (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) com voxel no tamanho de 10 µm em imagens a uma resolução de 1024x1024 e 14 µm de espessura, o que resultou um número específico de imagens por amostra. Para a avaliação da perda óssea em altura, foi utilizado o software

RadiAnt DICOM Viewer 5.0.1 (Medixant, Poznan, Poland) para as reconstruções em 3D das hemimandíbulas. Os modelos tridimensionais foram rotacionados e posicionados em uma posição padrão, na qual foi possível observar as faces vestibular e lingual dos dentes. A perda óssea vertical foi verificada pela mensuração da distância entre a junção cimento-esmalte (CEJ) e a crista óssea alveolar em seis pontos do primeiro molar inferior: méso-lingual, médio-lingual, disto-lingual, méso-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, fazendo-se a média destes em seguida. Para a verificação da qualidade do tecido ósseo alveolar, as mensurações foram feitas no programa de software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). As análises foram feitas em um uma pilha de 70 imagens localizadas na região do osso alveolar, em torno do primeiro molar inferior. Uma área foi padronizada para criar a região de interesse (ROI), considerando a região interradicular, próximo à região de furca, do primeiro molar inferior, desde o terço cervical até o terço médio da raiz, com uma área média de 0.160mm². Um *threshold* foi aplicado à segmentação de diferentes valores de cinza presentes na imagem. Para selecionar o *threshold*, as diferenças dos níveis de cinza do osso e de

outras estruturas nas imagens foram consideradas. O *threshold* foi estabelecido de 0 a 70. Utilizando o plug-in BoneJ, foram mensurados número trabecular (Tb.N), espessura trabecular (Tb.Th) e proporção óssea do volume ósseo e volume trabecular (BV/TV). Para avaliarmos o efeito do modelo de periodontite induzida e do treinamento físico sobre os níveis de proteína C reativa, sobre o balanço entre a capacidade antioxidante endógena e a produção de espécies reativas de oxigênio foram realizados diversos ensaios. Os animais (n = 12 por grupo) foram anestesiados com uma mistura de mistura de cloridrato de cetamina (90 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (9 mg/Kg) e sofreram eutanásia por deslocamento cervical, seguido da coleta de 5ml de sangue através de punção cardíaca no ventrículo esquerdo, utilizando-se solução heparinizada, e submetidos à centrifugação a 3500 rpm (rotações por minuto) por 10 minutos, para separação do plasma. Para as análises de estresse oxidativo, o plasma foi suspenso em solução Tris-HCl (HCl 20mM), pH 7,4, a 4°C, por desagregação sônica (concentração aproximada de 1 g/mL) e estocadas em a -- 80°C. Partes das amostras de sangue (soro) foram coletadas em tubos para sorologia com gel separador e analisadas pelo método de

imunoturbidimetria, sob refrigeração, por via semiautomatizada, através do equipamento ADVIA 2400 (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Germany). O analisador fotométrico realizou as dosagens de cada amostra fornecendo a leitura pelo software CardioPhase® hsCRP. Os valores obtidos foram tabulados para análise intergrupo. A peroxidação Lipídica foi avaliada a partir da quantificação do Malonaldeído (MDA), um peróxido lipídico utilizado como um indicador do estresse oxidativo. A determinação foi realizada com base na reação do MDA com o ácido tiobarbitúrico (TBA), em pH baixo e temperatura elevada, formando o complexo MDA -- TBA de cor rósea, com absorvância em 535 nm. O ensaio de descoloração do cátion radical ABTS foi determinado conforme sugerido por Re *et al.* (1999). O método baseia-se na redução de cor do radical catiônico do ácido 2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS • +), para uma forma reduzida incolor pelos antioxidantes das amostras. O cátion radical (ABTS • +) foi gerado pela reação de 7 mM ABTS com 2,45 mM de persulfato de potássio (K₂S₂O₈). A mistura de reação foi incubada, sob proteção da luz, por 16 horas, em temperatura ambiente. Em duplicata, 300 µL da solução de ABTS • + foram

adicionados a 3 μL de amostras em uma placa de 96 poços. Após 6 min de incubação à temperatura ambiente, as leituras das microplacas foram realizadas a 660 nm. O ensaio foi calibrado a partir da reatividade com Trolox e os resultados expressos em termos de equivalentes de Trolox (1,0 mmol/l). As amostras de plasma (6 amostras por grupo) foram armazenadas a -70°C até a realização dos ensaios. O homogeneizado foi processado como descrito por Safieh-Garabedian *et al.* (2015). Níveis de IL-1 β (intervalo de detecção: 62,5 – 4000 pg/mL; sensibilidade ou limite inferior de detecção [LLD]: 12,5 ng/mL de IL-1 β de camundongo recombinante), IL-10 (intervalo de detecção: 62,5 – 4000 pg/mL; sensibilidade ou LLD: 12,5 ng/mL de IL-10 de camundongo recombinante) e TNF- α (intervalo de detecção: 62,5 -- 4000 pg/mL; sensibilidade ou LLD: 50 ng/mL de TNF- α de camundongo recombinante) foram determinadas com um kit comercial ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), conforme descrito anteriormente por Kendall *et al.* (1983). Todas as amostras foram avaliadas por espectrofotometria UV-VIS (absorbância medida a 490 nm). A análise estatística foi feita dos dados obtidos com a avaliação da treinabilidade através do teste Kappa ponderado (calibração entre

avaliadores na avaliação de variáveis ordinais). Os dados da avaliação da performance dos animais, dos ensaios teciduais, da avaliação do sistema antioxidante, dos dados hematológicos séricos e da avaliação microtomográfica foram igualmente tabulados e analisados. Aos dados que apresentaram normalidade foi aplicado o ANOVA para dois fatores, avaliando os efeitos intergrupos, considerando presença e ausência de treinamento e/ou perda óssea induzida. Em caso de não apresentarem normalidade, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ para qualquer um dos testes. Todas as análises foram realizadas no software Graphpad Prism 7.0 e o poder do teste para cada análise foi realizado pelo programa Gpower versão 3.1 (Dusseldorf, NRW, Germany). Mesmo com a vasta literatura sobre os benefícios da atividade física, inclusive do treinamento como proposta de reabilitação em diversas patologias, ainda permanecem dúvidas quanto aos possíveis efeitos protetores do pré-condicionamento físico aeróbio sobre a perda óssea induzida pela periodontite (PARK *et al.*, 2010; ARIDA *et al.*, 2007). O treinamento físico moderado reduziu a concentração de proteína C reativa sérica em ratos submetidos ao protocolo de periodontite induzida por

ligadura, mas, mesmo o exercício demonstrando ser uma intervenção promissora frente à modulação de parâmetros inflamatórios, faz-se necessário obter dados remanescentes desta pesquisa para estabelecimento concreto das afirmações propostas.

REFERÊNCIAS

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY.
American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. **J Periodontol**, v. 86, n. 7, p. 835-8, Jul 2015. ISSN 0022-3492. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1902/jop.2015.157001>>.

ANDRADE, E. F. *et al.* Physical Exercise Improves Glycemic and Inflammatory Profile and Attenuates Progression of Periodontitis in Diabetic Rats (HFD/STZ). **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1702, 2018. ISSN 2072-6643. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30405072>>

ARIDA, R. M. *et al.* Physical training in developing rats does not influence the kindling development in the adult life. v. 90, n. 4, p. 629-633, 2007. ISSN 0031-9384.

AZUMA, M. M. *et al.* Omega 3 Fatty Acids Reduce Bone Resorption While Promoting Bone Generation in Rat Apical Periodontitis. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 6, p. 970-976, 2017/06/01/ 2017. ISSN 0099-2399.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239917300110> >.

BECK, J. *et al.* Periodontal disease and cardiovascular disease.v. 67, p. 1123-1137, 1996. ISSN 0022-3492.

BECK, J. D. *et al.* Periodontal profile class is associated with prevalent diabetes, coronary heart disease, stroke, and systemic markers of C-reactive protein and interleukin-6. **J Periodontol**, v. 89, n. 2, p. 157-165, Feb 2018. ISSN 0022-3492. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/JPER.17-0426>>

CHEN, W. W.; ZHANG, X.; HUANG, W. J. Role of physical exercise in Alzheimer's disease. **Biomed Rep**, v. 4, n. 4, p. 403-407, Apr 2016. ISSN 2049-9434 (Print) 2049-9434.

CHODZKO-ZAJKO, W. J. *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 7, p. 1510-30, Jul 2009. ISSN 0195-9131.

EBERSOLE, J. L. *et al.* The periodontal war: microbes and immunity. **Periodontology** 2000, v. 75, n. 1, p. 52-115, 2017/10/01 2017. ISSN 0906-6713. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/prd.12222> >. Acesso em: 2020/04/03.

FERNANDES, R. A. *et al.* Self-initiated physical activity is associated with high sensitivity C-reactive protein: A longitudinal study in 5,030 adults. **Atherosclerosis**, v. 273, p. 131-135, Jun 2018. ISSN 0021-9150. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0021915018300741/1-s2.0-S0021915018300741-main.pdf?_tid=d92ea1d0-b0ba-4804-9656-06eb03376974&acdnat=1542646240_15249deb90202ef896bb8962c4100391>.

FERNANDES, R. M. *et al.* The Effects of Moderate Physical Exercise on Adult Cognition: A Systematic Review. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. 667, 2018-June-08 2018. ISSN 1664-042X. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.00667>>.

GARBER, C. E. *et al.* Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 7, p. 1334-1359, 2011. ISSN 0195-9131. Disponível em: <https://journals.lww.com/acsm-msse/Fulltext/2011/07000/Quantity_and_Quality_of_Exercise_for_Developing.26.aspx>.

GLEESON, M. *et al.* The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nat Rev Immunol**, v. 11, n. 9, p. 607-15, Aug 5 2011. ISSN 1474-1733. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nri3041.pdf>>.

HEITZ-MAYFIELD, L. J.; LANG, N. P. Surgical and nonsurgical periodontal therapy. Learned and unlearned concepts. **Periodontol 2000**, v. 62, n. 1, p. 218-31, Jun 2013. ISSN 0906-6713.

LAMARÃO-VIEIRA, K. *et al.* Physical Exercise Attenuates Oxidative Stress and Morphofunctional Cerebellar Damages Induced by the Ethanol Binge Drinking Paradigm from Adolescence to Adulthood in Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 6802424, 2019/02/18 2019. ISSN 1942-0900. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2019/6802424>>.

LANG, N. P.; BARTOLD, P. M. Periodontal health. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, n. S20, p. S9-S16, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jcpe.12936>>.

LOCKHART PETER, B. *et al.* Periodontal Disease and Atherosclerotic Vascular Disease: Does the Evidence Support an Independent Association? **Circulation**, v. 125, n. 20, p. 2520-2544, 2012/05/22 2012. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31825719f3>>. Acesso em: 2020/02/21.

MALALI, E. *et al.* Levels of C-reactive protein and protein C in periodontitis patients with and without cardiovascular disease. **Pathophysiol Haemost Thromb**, v. 37, n. 1, p. 49-54, 2010. ISSN 1424-8832. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/Abstract/318189>>.

MCNAMARA, R. J. *et al.* Determinants of functional, peak and endurance exercise capacity in people with chronic obstructive pulmonary disease. **Respir Med**, v. 138, p. 81-87, May 2018. ISSN 0954-6111. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0954611118301045?via%3Dihub>>.

OPPERMANN, R. V. *et al.* Epidemiology of periodontal diseases in adults from Latin America. **Periodontol 2000**, v. 67, n. 1, p. 13-33, Feb 2015. ISSN 0906-6713. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/prd.12061>>

PAPAPANOU, P. N. *et al.* Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **J Clin Periodontol**, v. 45 Suppl 20, p. S162-s170, Jun 2018. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/jcpe.12946>>.

PARK, C. H. *et al.* Three-dimensional micro-computed tomographic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 2, p. 273-281, 2007. ISSN 0022-3492. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17274716>

POTEMPA, J.; MYDEL, P.; KOZIEL, J. The case for periodontitis in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Nat Rev Rheumatol**, v. 13, n. 10, p. 606-620, Oct 2017. ISSN 1759-4790.

PRESHAW, P. M. *et al.* Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. **Diabetologia**, v. 55, n. 1, p. 21-31, Jan 2012. ISSN 0012-186x.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999. ISSN 0891-5849.

SALLES, J. I. *et al.* Effect of specific exercise strategy on strength and proprioception in volleyball players with infraspinatus muscle atrophy. **Scand J Med Sci Sports**, May 17 2018. ISSN 0905-7188. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/sms.13216>>.

SANZ, M. *et al.* Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 47, n. S22, p. 4-60, 2020/07/01 2020. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jcpe.13290>>. Acesso em: 2021/02/12.

TEIXEIRA, F. B. *et al.* Periodontitis and Alzheimer's Disease: A Possible Comorbidity between Oral Chronic Inflammatory Condition and Neuroinflammation. **Front Aging Neurosci**, v. 9, p. 327, 2017. ISSN 1663-4365 (Print) 1663-4365. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5649154/pdf/fnagi-09-00327.pdf>>.

TOKER, H. *et al.* The effects of IL-10 gene polymorphism on serum, and gingival crevicular fluid levels of IL-6 and IL-10 in chronic periodontitis. **J Appl Oral Sci**, v. 26, p. e20170232, 2018. ISSN 1678-7757.

TSAI, C.; HAYES, C.; TAYLOR, G. W. Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 30, n. 3, p. 182-92, Jun 2002. ISSN 0301-5661 (Print) 0301-5661.