



**DIANA VILELA AZZI**

**EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE  $\beta$  -GLUCANA  
(*Saccharomyces cerevisiae*) SOBRE O METABOLISMO E  
CONTROLE DA DOENÇA PERIODONTAL EM RATOS  
DIABÉTICOS INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA**

**LAVRAS-MG  
2018**

**DIANA VILELA AZZI**

**EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE  $\beta$  –GLUCANA (*Saccharomyces cerevisiae*)  
SOBRE O METABOLISMO E CONTROLE DA DOENÇA PERIODONTAL EM  
RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA**

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

Orientador

Dr. Luciano José Pereira

Co-orientadora

Dra. Viviam de Oliveira Silva

**LAVRAS  
2018**

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

Azzi, Diana Vilela.

Efeito de diferentes níveis de betaglucana (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre o metabolismo e controle da doença periodontal em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina / Diana Vilela Azzi. - 2018.

54 p. : il.

Orientador(a): Luciano José Pereira.

Coorientador(a): Viviam de Oliveira Silva.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Diabetes melitus. 2. Doenças crônicas. 3. Fibras alimentares.  
I. Pereira, Luciano José. II. Silva, Viviam de Oliveira. III. Título.

**DIANA VILELA AZZI**

**EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE  $\beta$  –GLUCANA (*Saccharomyces cerevisiae*)  
SOBRE O METABOLISMO E CONTROLE DA DOENÇA PERIODONTAL EM  
RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA**

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

Aprovada em 20 de setembro de 2018

Dr. Rodrigo Ferreira de Moura

UFLA

Dra. Grazielle Caroline da Silva

UNILAVRAS

Orientador

Dr. Luciano José Pereira

Co-orientadora

Dra. Viviam de Oliveira Silva

**LAVRAS  
2018**

*A minha amada avó Miriam Ribeiro Vilela que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida me apoiando e incentivando com todo seu amor, minha gratidão será eterna.*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bênçãos concedidas. Ao meu marido Álvaro Carvalho Vieira por todo seu amor, companheirismo, paciência e incentivo. Ao meu filho Guilherme Vilela Carvalho pelo seu amor e carinho e por despertar em mim a vontade de ser cada dia melhor. A minha querida mãe, Deborah Ribeiro Vilela por toda sua dedicação, apoio e amor em todos os momentos da minha vida. Ao meu pai, Mauro Rezende Azzi por todo carinho e apoio nos meus estudos.

Aos meus irmãos Daniel Vilela e Leonardo Vilela pelo companheirismo. Ao meu tio, Ronaldo Ribeiro Vilela pela sua amizade e apoio.

Ao meu tio, Marcelo Ribeiro Barbosa pela atenção em todos os momentos que eu precisei. Aos meus primos Rodrigo Costa e Miguel Vilela pelos momentos de descontração. A minha tia, Eliane Ribeiro Vilela pelo carinho.

Ao meu querido avô Reinaldo Alves Vilela “*In Memoriam*” por me mostrar que a vida deve ser vivida com alegria.

Agradeço ao meu bisavô Paulo Ribeiro Rosa “*In Memoriam*” pelo seu exemplo de bondade, justiça e por tudo que sempre fez por mim.

As minhas queridas amigas, Andressa Naira de Jesus Pereira, Andressa Lima Ribeiro Veiga, Débora Galdino, Marina Apocalypse e Nathália Oliveira que contribuíram nessa jornada com ajuda, apoio e amizade, tornando todos os momentos de trabalho mais alegres. Ao amigo Eric Francelino, que sempre esteve disposto a ajudar, deixando tudo mais divertido.

Aos meus colegas de laboratório Matheus Brito Rosa e Janina Salles Guillarduci por toda ajuda.

As minhas amigas e companheiras de experimento, Maísa Lamounier e Marina Lamounier por toda ajuda e apoio.

Ao técnico Willian Cortez, do laboratório de Fisiologia e Farmacologia, agradeço por toda atenção, ajuda e por ser esse profissional exemplar. Meus agradecimentos também a técnica do biotério Erika Aparecida Oliveira pela disposição em ajudar sempre.

Agradeço a Prof. Dra. Renata de Carvalho Foureaux pela amizade, ajuda na indução da doença periodontal dos animais e aceite na participação da banca de qualificação e defesa.

A Prof. Dra. Aline Carvalho Pereira pelo aceite em participar da banca de qualificação e defesa.

Agradeço ao Prof. Dr. Raimundo Vicente de Souza “*In Memoriam*”, por toda atenção e disposição de ajudar, profissional e pessoa inigualável que exercia a profissão com zelo, dedicação e disposição de sempre ajudar a todos que precisavam.

Ao Prof. Dr. Douglas Campedelli Fonseca por aceitar participar da minha qualificação e pela sua contribuição.

Agradeço ao Prof. Dr. Rodrigo Ferreira de Moura pelo aceite em participar da banca e por sempre estar disposto em ajudar.

A Prof. Dra. Grazielle Caroline da Silva por aceitar o convite de participação da banca.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luciano José Pereira agradeço pela confiança, por ter me aceitado como orientada, por todos os ensinamentos e aprendizados que me fizeram crescer profissionalmente e pessoalmente. Pelo exemplo de excelência de profissional dedicado e comprometido, que fez despertar em mim a vontade de aprimorar cada vez mais os meus conhecimentos.

A minha coorientadora e amiga Prof. Dra. Viviam de Oliveira por toda ajuda, apoio, ensinamentos e principalmente pela sua amizade.

Meus agradecimentos ao excelentíssimo Reitor da Universidade Federal de Lavras, José Roberto Soares Scolforo e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias da UFLA representada pela Profa. Dra. Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha.

Agradeço a secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Maria Fátima Ferreira por todo auxílio e boa vontade.

Aos animais do experimento minha gratidão.

## RESUMO GERAL

As  $\beta$ -glucanas (BGs) são polissacarídeos que podem ser obtidos da parede celular de fungos, bactérias e plantas. Conhecidas pela sua ação funcional como fibras solúveis, as  $\beta$ -glucanas apresentam efeitos metabólicos e de modulação imunológica. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento com diferentes níveis de  $\beta$ -Glucana (BG) isoladas de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o perfil metabólico e inflamatório de ratos diabéticos induzidos por injeção intraperitoneal de estreptozotocina e com doença periodontal (DP), induzida por ligadura. Um total de 40 ratos *wistar* foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n=8) e estes foram tratados por gavagem com BGs durante 28 dias com as respectivas dosagens de: 0mg/kg; 10mg/kg; 20mg/kg; 40mg/kg e 80mg/kg. No décimo quarto dia foi realizada a ligadura nos primeiros molares inferiores bilateralmente. Ao final do período, os animais foram eutanasiados e os níveis séricos de colesterol total (CT), triacilgliceróis (TAG) e lipoproteínas de alta densidade (HDL-C) bem como as lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL-C+VLDL-C) foram determinados. A reabsorção óssea alveolar foi verificada através da análise morfométrica. Os dados foram avaliados por Análise de Variância seguido do teste Dunnett a 5% ( $p < 0,05$ ). Houve menor reabsorção óssea alveolar bem como redução da glicemia e TAG à partir da dose de 40mg/kg ( $p < 0,05$ ). No entanto para as variáveis CT, LDL-C+VLDL-C e HDL-C somente foram encontrados benefícios significativos na dose de 80mg/kg ( $p < 0,05$ ). Conclui-se que houve efeito dose - dependente das BGs na prevenção da reabsorção óssea alveolar, bem como sobre parâmetros metabólicos em ratos diabéticos com doença periodontal.

**Palavras-chave:** Diabetes *mellitus*, doenças crônicas, fibras alimentares, inflamação, periodontite



## GENERAL ABSTRACT

$\beta$ -glucans (BGs) are polysaccharides, which can be extracted from fungi, bacteria, and plant cell walls. Because they act as soluble fibers, BGs have metabolic and immunological modulating effects. This work aimed to evaluate the effect of a treatment using different levels of *Saccharomyces cerevisiae*-isolated BG on both the metabolic and the inflammatory profile of rats induced to periodontal disease by means of ligature and to mellitus diabetes (streptozotocin via intraperitoneal). Forty wistar rats were randomly allocated in 5 groups (n=8) and then administered with BGs (0mg/kg, 10mg/kg, 20mg/kg, 40mg/kg, and 80mg/kg) for 28 days. After 14 days, the ligature was bilaterally performed on the first lower molars. On the 28th day, euthanasia was performed on the animals. The levels of total cholesterol CT, tricilglicerois (TAG), high-density lipoproteins (HDL-C), low density and very low-density lipoproteins (LDL-C+VLDL-C) were determined. Alveolar bone loss was found by morphometric analysis. Data were analyzed by using Variance Analysis followed by Dunnett test ( $p < 0.05$ ). Alveolar bone reabsorption as well as glicemia and TAG reduction were found to be lower from 40mg/kg dosage ( $p < 0.05$ ). However, for the CT, LDL-C+VLDL-C, and HDL-C variables, significant benefits were only found when 80mg/kg BG was used. It can be concluded that B glucans have a dose-dependent effect on both alveolar bone reabsorption and metabolic parameters in diabetic rats sick with periodontal disease.

**Key words:** diabetes mellitus, chronic disease, food fibers, inflammation, periodontitis

## LISTA DE FIGURAS

### SEGUNDA PARTE - ARTIGO

#### ARTIGO-1

- Figura 1:** Representação esquemática do desenho experimental ao longo do tempo.... **43**
- Figura 2:** Parâmetros metabólicos de animais diabéticos com doença periodontal tratados com diferentes níveis de  $\beta$ -glucana de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias.  
..... **45**
- Figura 3:** Reabsorção óssea alveolar (mm – média  $\neq$  desvio padrão) em animais diabéticos com doença periodontal tratados com diferentes níveis de  $\beta$ - glucanas de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias..... **46**
- Figura 4:** Análise morfométrica dos animais diabéticos com doença periodontal tratados com diferentes níveis de  $\beta$ - glucana de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias..... **46**

## LISTA DE TABELAS

### SEGUNDA PARTE - ARTIGO

#### ARTIGO 1

<b>Tabela 1:</b> Grupos experimentais de animais diabéticos com doença periodontal tratados com diferentes níveis de $\beta$ -Glucana obtidas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> durante 28 dias .....	<b>42</b>
---	-----------

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
AGCCs	Ácidos graxos de cadeia curta
AGEs	<i>Advanced glycation end products</i>
ANOVA	Análise de variância
ALT	Alanina transaminase
BG	Betaglucana
BGs	Betaglucanas
CEJ	Junção cimento esmalte
CR3	Receptor de complemento 3
CT	Colesterol total
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DP	Doença periodontal
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FID	Federação internacional de diabetes
GAD65	Descarboxilase do ácido glutâmico
GCDMDP	Grupo controle diabetes <i>mellitus</i> e doença periodontal
GDMDP	Grupo diabetes <i>mellitus</i> e doença periodontal
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon 1
HbA1c	Hemoglobina Glicosilada
HDL-C	Lipoproteínas de alta densidade
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL-1b	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
LacCer	Lactosilceramida

LADA	Diabetes autoimune latente da idade adulta
LDL-C	Lipoproteínas de baixa densidade
LDL+VLDL	Lipoproteína de baixa densidade + Lipoproteína de muito baixa densidade
M1	Macrofágos de ativação clássica
M2	Macrofágos de ativação alternativa
MODY	Diabetes de início de maturação do jovem
MPM	Metaloproteínases
NK	Células natural killer
OPG	Osteoprotegerina
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Proteína C reativa
Pgs	Prostaglandinas
PgE2	Prostaglandina E2
PNM	Leucócitos polimorfonucleares
PRRS	Receptores de reconhecimento de padrão
RAGES	<i>Receptor for advanced glycation end products</i>
RANKL	Ligante do receptor kappa beta
SPS	Peroxidase salivar
SR	Receptor de escape
TAG	Triacilglicerol
TCF72	<i>Transcription fator like-2</i>
TLR	Receptor do tipo <i>toll-like</i>
Znt8	Transportador de Zinco

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	<b>15</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1 <math>\beta</math>-Glucanas</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2 Diabetes Mellitus</b> .....	<b>19</b>
<b>2.3 Doença Periodontal</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4 Relação bidirecional do Diabetes e a Doença Periodontal</b> .....	<b>26</b>
<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>31</b>
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGO</b> .....	<b>39</b>
<b>ARTIGO – EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE <math>\beta</math>-GLUCANA (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) SOBRE O METABOLISMO E CONTROLE DA DOENÇA PERIODONTAL EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA</b> .....	<b>39</b>
<b>6. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>51</b>
<b>ANEXO</b> .....	<b>54</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

### **1. INTRODUÇÃO**

As  $\beta$ -glucanas (BGs) são polissacarídeos presentes na parede celular de fungos, bactérias e plantas. Possuem ação metabólica e imunomodulatória evidenciadas na literatura (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2017). A ação metabólica tem sido demonstrada pela capacidade das BGs formarem uma camada gelatinosa que funciona como uma barreira viscosa sobre o epitélio intestinal dificultando absorção de nutrientes, especialmente carboidratos e lipídeos, reduzindo a glicemia e o perfil lipídico sanguíneo. Ademais, a fermentação das BGs no intestino altera o perfil microbiano intestinal aumentando a geração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que estimulam a produção de imunoglobulinas A (IgA), melhorando a resposta imune e auxiliando na diminuição da resistência insulínica (STIER; EBBESKOTTE; GRUENWALD, 2014).

Em razão da fisiopatologia envolvendo aspectos metabólicos e inflamatórios interligados, o diabetes *mellitus* (DM) se destaca entre as doenças alvo de potencial benefício para uso terapêutico das BGs. Trata-se de uma doença crônica caracterizada pela deficiência total ou parcial da produção de insulina e/ou por resistência a ação da mesma. Indivíduos diabéticos apresentam diversas anormalidades metabólicas e inflamatórias, resultando em hiperglicemia e predisposição ao desenvolvimento de comorbidades inflamatórias tais como, aterosclerose e doença periodontal (DP) (FRANCELINO ANDRADE et al., 2014a).

No caso específico da DP, a hiperglicemia presente no diabetes favorece a formação de produtos finais de glicação avançada (AGE) que levam a alterações vasculares nos tecidos gengivais bem como redução da eficiência fagocitária de macrófagos e neutrófilos. No diabetes ocorre ainda diminuição da síntese de colágeno, dificultando o reparo tecidual (ALVES et al., 2007). Simultaneamente, em sua forma ativa, a DP libera diversas citocinas pró-inflamatórias, dentre elas, interleucina 6 (IL-6) e Fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) que contribuem para resistência insulínica, aumentando o risco de complicações metabólicas (SETE et al., 2016).

Uma vez que os mecanismos envolvidos na DM e DP são semelhantes, pesquisas envolvendo princípios ativos que auxiliem na modulação da resposta inflamatória podem favorecer o controle adequado do metabolismo reciprocamente. Estes efeitos simultâneos são altamente relevantes, visto que, a descompensação glicêmica torna-se um agravante em pacientes com DP e vice-versa (LEE et al., 2015).

Neste contexto, as  $\beta$ -glucanas possuem ação reconhecida na literatura por diminuir a glicemia, indiretamente favorecem o controle da secreção da insulina, bem como o controle do colesterol total e triacilgliceróis (FRANCELINO ANDRADE et al., 2014a), além de reduzirem a reabsorção óssea alveolar em animais com DP (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2015).



## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 $\beta$ -Glucanas

A eficácia das  $\beta$ -glucanas para estimular o sistema imunológico e modular processos patogênicos é conhecida há mais de 50 anos. No entanto, os resultados obtidos são muitas vezes controversos, principalmente devido a comparações inconsistentes de  $\beta$ -glucanas, de origens diversas (fungos, plantas) e pesos moleculares distintos (STIER; EBBESKOTTE; GRUENWALD, 2014).

A estrutura química das  $\beta$ -glucanas tem uma central de ligação linear  $\beta$  (1-3) compostas de unidades de glicose ligadas para a corrente principal, que diferem de acordo com o seu comprimento e ramificação. As ramificações de cadeia glicosídica são altamente variáveis e os dois grupos principais de ramo são o  $\beta$  (1-4) e  $\beta$  (1-6). Essas ramificações distinguem as fontes de  $\beta$ -glucanas, por exemplo, BGs provenientes de fungos tem ramificações do lado  $\beta$  (1-6), enquanto as de bactérias e plantas têm ramificações do lado  $\beta$  (1-4) (BASHIR; CHOI, 2017).

Essas discrepâncias podem ser atribuídas à diferente habilidade da  $\beta$ -glucana para estimular o sistema imunológico, que é altamente dependente do tipo de ligação intermolecular, solubilidade em água e peso molecular (FRID et al., 2017).

A parede celular da levedura *S. cerevisiae*, é extremamente elástica, pois suas células possuem capacidade de diminuir de tamanho em soluções hipertônicas como resposta à pressão osmótica e posteriormente retornam ao seu tamanho original mediante as condições ambientais adequadas (MORRIS et al., 1986).

A  $\beta$ -glucana atua nos mecanismos de defesa do organismo, através da ativação da resposta imune via sistema complemento, diretamente, ou através de anticorpos que produzem substâncias químicas induzindo a migração de leucócitos para o local da infecção. O efeito imunomodulador das  $\beta$ -glucanas está relacionado tanto à imunidade humoral, quanto a imunidade celular (LEE et al., 2015).

Os mecanismos de ação da resposta imune desencadeados pela  $\beta$ -glucana englobam o estímulo da hematopoese, ativação de macrófagos, neutrófilos e de células natural killers (NK). A interação de  $\beta$ -glucanas com diferentes receptores celulares induzindo sinalização intracelular pode ativar diferentes perfis da resposta imune (MARAKALALA et al., 2013).

Os macrófagos são células-chave nas respostas pró e anti-inflamatórias, sendo parte integrante da resposta imune inata e adaptativa. Macrófagos de ativação clássica (M1), produzem altos níveis de citocinas pró-inflamatórias e macrófagos de ativação

alternativa (M2), mostram um perfil anti-inflamatório envolvido na cicatrização de feridas e reparo tecidual (MARTINEZ et al., 2006).

Moléculas diferencialmente expressas em cada subpopulação de macrófagos podem ser empregadas como marcadores de uma via de diferenciação específica. A administração *in vivo* de  $\beta$ -glucanas tem sido benéfica contra agentes patogênicos, tais como fungos, bactérias, vírus e protozoários em vários modelos animais, estimulando imunidade inata, produção de citocinas e estresse oxidativo. Apesar deste papel pro inflamatório, as  $\beta$ -glucanas podem diminuir o dano tecidual nos processos inflamatórios já estabelecidos (WILLIAMS et al., 1999).

Em um estudo com suplementação de  $\beta$ -glucanas derivadas de Shiitake na dieta de coelhos, durante 30 dias, houve a redução da expressão de interleucina 10 (IL-10) e aumento dos níveis de interleucina 4 (IL-4) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ), o que indica uma resposta imune contínua. Diferenças na expressão de interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina 13 (IL-13) e IL-4 também foram encontradas, sugerindo estimulação adicional da resposta adaptativa (CRESPO et al., 2017).

As  $\beta$ -Glucanas tem sido estudadas como adjuvantes em vacinas, por estimularem o sistema imune. Sendo assim, a combinação do antígeno e adjuvante pode auxiliar tanto na melhoria da resposta imunológica quanto na resposta imune adaptativa (CORDEIRO; ALONSO; DE LA FUENTE, 2015).

Através de uma revisão foi demonstrado, que  $\beta$ -glucanas de levedura possuem atividade imunomodulatória, enquanto as presentes na estrutura de plantas e bactérias concedem melhor potencial metabólico (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2017).

Por se tratar de um polímero caracterizado como fibra, a  $\beta$ -glucana é utilizada como tratamento alternativo no auxílio do controle glicêmico, bem como na diminuição da resistência à insulina e na melhora do perfil lipídico (ANDRADE et al., 2015). Além disso, possui ação imunomodulatória (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2017).

Evidências foram encontradas demonstrando que a associação da  $\beta$ -glucana e exercício físico reduzem a predisposição à aterosclerose, além de melhorar os níveis de lipoproteínas circulantes (colesterol total, LDL-c e HDL-c) através da diminuição da absorção de lipídeos (ANDRADE et al., 2016).

Além disso, as  $\beta$ - glucanas são fermentadas pela microbiota intestinal gerando os ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) como metabólitos. Pesquisas relataram que os AGCCs desencadeiam efeitos anti-inflamatórios sistêmicos através da produção de imunoglobulina A e citocinas imunossupressoras (ARA KOH, 2016).

Os AGCCs também desempenham papéis vitais no diabetes tipo 2, resultando em efeitos biológicos, ao se ligarem aos receptores acoplados a proteína G promovendo a secreção do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), importante hormônio do trato gastrointestinal que impede a secreção do glucagon dificultando assim a gliconeogênese no fígado, melhorando a sensibilidade à insulina, aumentando a saciedade central e a perda de peso corporal (AW; FUKUDA, 2018).

Outro mecanismo demonstrado pelos AGCCs é sua ação moduladora da microbiota intestinal. Como são ácidos com valores de pKa de aproximadamente 4,8, a sua produção diminui o pH do colón intestinal e afeta a composição bacteriana. De fato, estudos *in vitro* sugeriram que a redução do pH colônico de 6,7 ou 6,5 para 5,5 altera a composição microbiana drasticamente. Portanto, a acidificação do lúmen colônico como resultado da fermentação sacarolítica é considerado efetivo na redução dos níveis de agentes patogênicos sensíveis ao pH no intestino grosso (TOPPING; CLIFTON, 2001).

A redução do pH no colón intestinal promove o aumento de bactérias benéficas, por serem resistentes em meio ácido como a *A.muciniphila* que concomitantemente regula a inflamação, permeabilidade intestinal e peptídeo anorexigênico e as *Bifidobacterium spp* que são correlacionadas inversamente com a adiposidade e intolerância à glicose, ao passo que as bactérias patogênicas, sensíveis à acidez, têm seu número reduzido (CANI et al., 2007).

## **2.2 Diabetes Mellitus**

Segundo a Federação Internacional de Diabetes (2017), estima-se que 415 milhões de adultos no mundo são acometidos pela doença e que este número alcançará cerca de 642 milhões até 2040. Ademais, cerca de 80% desses indivíduos encontra-se em países em desenvolvimento. O risco estimado de desenvolver diabetes para uma pessoa nascida no ano de 2000 é 33% para homens e 38,5% para mulheres. Além disso, o diabetes está reduzindo a vida das pessoas, uma estimativa de diminuição da expectativa de vida de uma pessoa com diagnóstico de diabetes aos 40 anos é de cerca de 12 anos para os homens e 14 anos para as mulheres (LIRA NETO et al., 2017).

Considera-se o DM um dos principais problemas de saúde pública mundial, isto se deve ao envelhecimento populacional, hábitos alimentares inadequados, bem como sedentarismo e obesidade. O DM consiste em uma série de alterações metabólicas caracterizadas pelo aumento da glicose sanguínea, resultante da falha na secreção e/ou ação da insulina (ROGLIC et al., 2005).

A presença de hiperglicemia em longo prazo é o fator desencadeante das complicações macro e microvasculares nos indivíduos diabéticos, sendo estas as principais causas de alta morbidade e letalidade associada à diabetes (LIRA NETO et al., 2017). As complicações microvasculares correspondem às alterações dos pequenos vasos, levando à retinopatia, nefropatia e neuropatia diabética. Por outro lado, as complicações macrovasculares correspondem aquelas que provocam alterações dos grandes vasos, nomeadamente as artérias coronárias, dos membros inferiores e cerebrais. Nos grandes vasos, estas complicações devem-se à presença de aterosclerose, que ocorre de forma distinta em pacientes não diabéticos (ASSOCIATION AMERICAN DIABETES, 2018).

Além disso, o diabetes aumenta o risco de patologias orais, incluindo infecções agudas, periodontite e possivelmente lesões pré-malignas (LEE et al., 2015).

O diabetes pode ser classificado nas seguintes categorias: tipo 1, tipo 2, diabetes gestacional (diabetes que é diagnosticado no segundo ou terceiro mês da gravidez que não era diabetes evidente claramente antes da gestação) e tipos específicos de diabetes devido a outras causas, por exemplo, síndromes de diabetes monogênicas, como diabetes neonatal e diabetes de início de maturação do jovem (*MODY*), doenças do pâncreas exócrino (como fibrose cística e pancreatite), diabetes induzida por produtos químicos (como o uso de glicocorticóides, no tratamento do Vírus da Imunodeficiência Humana-VIH) ou drogas (ASSOCIATION AMERICAN DIABETES, 2018).

O diabetes tipo 1, previamente designado como diabetes insulino dependente, ou diabetes juvenil representa cerca de 5-10% das pessoas que apresentam diabetes. A sua instalação ocorre de forma abrupta em crianças e adultos jovens, com peso normal ou estrutura magra, contudo também pode ser detectada em qualquer idade. Este tipo de diabetes apresenta uma causa idiopática ou autoimune com destruição das células  $\beta$  pancreáticas produtoras de insulina originando, por isso, uma deficiência na secreção de insulina. Diante deste quadro, torna-se necessário a utilização de insulina exógena em indivíduos acometidos pelo diabetes tipo 1 (OLIVEIRA et al., 2018).

Por outro lado, a vulnerabilidade para a diabetes tipo 1 está também associada com a presença de certos antígenos na superfície dos linfócitos os denominados (antígeno leucocitário humano - HLA) (NEGRATO et al., 2013).

A taxa e a velocidade da destruição das células- $\beta$  pode ser variável, sendo rápida em alguns indivíduos podendo, principalmente em bebês e crianças e de forma mais lenta em adultos. Normalmente, as crianças apresentam como primeira manifestação da doença

a presença de cetoacidose, enquanto que os adultos conseguem manter a função das células- $\beta$ , de modo a prevenir a cetoacidose por alguns anos. Além da destruição das células  $\beta$  pancreáticas apresentar múltiplas predisposições genéticas, existem também correlações com fatores ambientais estando também intensamente relacionada a fatores ambientais, tais como infecções virais provocadas pelo coxsackie vírus, citomegalovírus e infecções por rubéola (OLIVEIRA et al., 2018).

Indivíduos com diabetes tipo 1 tornam-se mais sensíveis à ocorrência de cetoacidose diabética, devido à ausência de insulina necessária para a utilização da glicose sanguínea. Deste modo, através da lipólise, a gordura é clivada liberando ácidos graxos e glicerol; o glicerol é posteriormente convertido em glicose no fígado. Este aumento dos níveis de cetonas nos líquidos do organismo vai promover a diminuição do pH, alterações do sistema tampão do bicarbonato e perda eletrolítica devido ao excesso de urina. A presença de cetoacidose grave não tratada pode levar ao coma ou até mesmo à morte (MAGEE; BHATT, 2001).

Cabe salientar que a presença de estresse e infecção, no indivíduo diabético, também podem potencializar a ocorrência deste fenômeno devido aos níveis elevados de epinefrina, glucagon e cortisol que irão promover um aumento da glicose hepática, bem como da cetogenese (WILSON et al., 2003).

Portadores de diabetes tipo 1 apresentam uma maior propensão para o desenvolvimento de outras doenças auto-imunes como a doença de Graves, tireoidite de Hashimoto, doença de Addison, vitiligo, doença celíaca, hepatite autoimune, miastenia gravis e anemia perniciosa. O diabetes tipo 1 de causa idiopática ocorre, na sua maioria em indivíduos com ascendência Africana ou Asiática (AW; FUKUDA, 2018).

O diabetes tipo 2 representa cerca de 90-95% das pessoas que apresentam diabetes, surgindo majoritariamente em indivíduos com peso excessivo e adultos. Este tipo de diabetes é caracterizado por apresentar uma resistência periférica à insulina; aumento da produção de glicose pelo fígado e por último, uma secreção deficiente de insulina (NEGRATO et al., 2013).

O diabetes insulino-resistente apresenta uma forte ligação com a obesidade, uma vez que na sua presença verifica-se uma resistência à ação da insulina endógena. Este tipo de diabetes apresenta um componente genético mais forte que o diabetes insulino-dependente, sendo o gene *transcription factor-like 2* (TCF7L2) no cromossoma 10 (10q25) o principal marcador genético associado a este tipo de diabetes. O diabetes

não insulino dependente pode permanecer não diagnosticado por muitos anos, sendo de lenta instalação (EID et al., 2018).

Portanto, como ainda existe produção de insulina endógena, os indivíduos com este tipo de diabetes não dependem da administração de insulina exógena. A crescente incidência de diabetes tipo 2 estreita paralelo com as epidemias de sobrepeso e obesidade. O tecido adiposo abdominal visceral gera citocinas, chamadas adipocinas, que estão ligadas à resistência à insulina, hipertensão e dislipidemia (ALASQAH et al., 2018).

Uma grande quantidade de fatores de risco, alguns modificáveis e outros corrigidos, predis põem um indivíduo a diabetes tipo 2. A história familiar de diabetes em membros de primeiro grau, idade crescente e etnia (hispânica, afro-americana, asiático-americana, nativa-americana) são fatores de risco clássicos não modificáveis. O excesso de peso com um índice de massa corporal  $> 25 \text{ kg/ m}^{-2}$ , o estilo de vida sedentário e a homeostase de glicose prejudicial pré-existente são fatores de risco modificáveis. Outros fatores incluem diabetes mellitus gestacional, parto prévio de um bebê pesando  $> 9$  libras, síndrome de ovário policístico, hipertensão e dislipidemia (AW; FUKUDA, 2018).

Um indivíduo pode não se encaixar nas características típicas de diabetes tipo 1 ou tipo 2. O diabetes tipo *Flatbush*, denominado *Flatbush* diabetes, relata pacientes com diabetes tipo 2, em grande parte descendentes de afro-americanos, que são mais propensos a desenvolver cetoacidose diabética, uma complicação normalmente vista no diabetes tipo 1 (RODACKI et al., 2007).

O diabetes autoimune latente da idade adulta (LADA) é composta por pacientes que apresentam evidência de auto imunidade, mas apresentam diabetes após 30 anos. Os indivíduos com LADA tendem a ser adultos cujo o diabetes apresenta agudamente, têm antecedentes pessoais ou familiares de doença auto imune, respondem mal aos medicamentos orais para diabetes, e muito eventualmente requerem insulina (CARLSSON et al., 2000).

As pessoas com diabetes tipo 1 eram vistas como indivíduos magros; no entanto, os jovens obesos não são imunes ao desenvolvimento de diabetes tipo 1. Indivíduos obesos ou com excesso de peso podem sofrer algum grau de resistência à insulina, exigindo doses mais elevadas de insulina e potencialmente beneficiando de medicamentos similares de sensibilização à insulina oral utilizados no diabetes tipo 2 (AW; FUKUDA, 2018).

Os restantes 5-10% dos indivíduos com diabetes têm uma causa secundária, alguns dos quais são herdados e outros adquiridos. Além disso, muitas pessoas com

diabetes têm insinuações pro - glicêmicas sobrepostas que tornam o controle de glicose mais difícil. As causas secundárias e fatores exacerbadores incluem: mutações genéticas que interferem com a função das células beta, anteriormente denominada diabetes de início da maturidade do jovem; doença pancreática incluindo fibrose cística, pancreatite crônica, hemocromatose ou ressecção pancreática; endocrinopatias como a síndrome de Cushing, acromegalia, tumores secretantes de glucagon ou somatostatina e feocromocitoma; diabetes induzida por drogas devido a corticosteroides, imunossupressores utilizados em transplantes de órgãos, incluindo tacrolimus e ciclosporina, antipsicóticos atípicos, incluindo clozapina e olanzapina, medicamentos cardiovasculares, incluindo niacina e betabloqueadores, e inibidores de protease do HIV e distúrbios mitocondriais raros (ALASQAH et al., 2018).

O diagnóstico do diabetes é feito tendo em conta os sinais e sintomas apresentados pelo paciente, associados a uma avaliação laboratorial. Os primeiros sinais e sintomas do diabetes incluem poliúria que por sua vez irá provocar desidratação, sede e aumento da ingestão hídrica (polidipsia), súbita perda de peso e polifagia. Para além destes sinais e sintomas, o indivíduo pode também apresentar fraqueza, irritabilidade, alterações da visão, náuseas, indisposição e boca seca (HURI et al., 2018).

Quanto aos critérios laboratoriais incluem: determinação da glicose plasmática em jejum  $\geq 126$  mg/dl, sendo que o jejum é determinado como ausência de ingestão alimentar durante oito horas; glicose numa amostra de sangue casual (a qualquer hora do dia, independentemente do período decorrido após a última refeição)  $\geq 200$ mg/dl; testes de tolerância à glicose oral  $\geq 200$ mg/dl duas horas, após a ingestão de 75 g de glicose anidra dissolvida em água. Deve-se salientar que no dia seguinte deve-se repetir o teste utilizado para confirmação do resultado. O teste da Hemoglobina Glicosilada (HbA1c) também é bastante utilizado para a detecção e controle da diabetes mellitus. Este teste permite a determinação da quantidade de glicose que se liga irreversivelmente na molécula de hemoglobina das células vermelhas e que se manterá ligada durante todo o seu tempo de vida, cerca de 30 a 90 dias. O valor normal para a hemoglobina HbA1c é inferior a 6,5%, sendo que quanto maior o nível de glicose, maior a percentagem de hemoglobina glicosilada (AW; FUKUDA, 2018).

### **2.3 Doença Periodontal**

Doença Periodontal (DP) é uma infecção crônica, produzida por bactérias Gram-negativas (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella*

*corrodens*, *Camphylobacter retus*), entre outras com níveis de prevalência elevados, sendo a segunda maior causa de patologia bucal na população humana de todo o mundo (MICHAUD et al., 2007).

É definida como uma doença sujeito e sito-específica, que evolui continuamente com períodos de exacerbação e de remissão, resultando de uma resposta inflamatória e imune do hospedeiro à presença de bactérias e seus produtos. A sua progressão é favorecida pelas características morfológicas dos tecidos afetados, o que a distingue de outras doenças infecciosas (ACADEMY et al., 2015).

As manifestações clínicas da doença são dependentes das propriedades agressoras dos microrganismos e da capacidade do hospedeiro em resistir à agressão. Embora o mais importante mecanismo de defesa resida na resposta inflamatória que se manifesta inicialmente como gengivite, variações na eficácia protetora do processo inflamatório e o potencial patogênico das bactérias podem ser a causa principal das diferenças encontradas na susceptibilidade à doença periodontal. O processo inflamatório desencadeado pode culminar com a instalação de uma periodontite. Inicialmente ocorre um desequilíbrio entre bactérias e defesas do hospedeiro que leva a alterações vasculares e à formação de exsudado inflamatório (RETTORI et al., 2012).

Esta fase manifesta-se clinicamente com alteração da cor da gengiva, hemorragia e edema, sendo uma situação reversível se a causa for eliminada. Esta situação, definida como gengivite, promove a fragilização das estruturas, o que possibilita um maior acesso dos agentes bacterianos agressores e/ou seus produtos às áreas subjacentes, podendo resultar na formação de bolsas periodontais, com perda óssea e uma contínua migração apical do epitélio juncional. Este tipo de epitélio oferece menos resistência aos agentes agressores o que predispõe o processo inflamatório. Este processo culmina com a destruição dos componentes do periodonto, ou seja, cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar (BREIVIK et al., 2005).

A resposta imune de cada indivíduo tem um papel importante no início e progressão desta doença, como foi referido anteriormente, e pode ser influenciada por fatores de risco, biológicos e comportamentais. Em presença de bactérias específicas, o hospedeiro inicia uma resposta de defesa que condiciona o fato de ocorrerem ou não lesões a nível celular e tecidual (MOUTSOPOULOS; MADIANOS, 2006).

Esta resposta pode ser inespecífica (inata), que se trata do primeiro contato com os referidos microorganismos, ou específica (adaptativa), quando já ocorreu contato prévio entre o hospedeiro e os agentes bacterianos. A presença de bactérias e suas toxinas



estimulam neutrófilos, fibroblastos, células epiteliais e monócitos. Os neutrófilos produzem as metaloproteinases (MPM) que levam à destruição do colágeno. As restantes células envolvidas promovem a produção de prostaglandinas (Pg), especialmente a Prostaglandina E2 (PgE2), que por sua vez induz formação de citocinas, entre as quais interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ), que conduzem à reabsorção óssea através da estimulação dos osteoclastos. Estas células, ainda que indiretamente, levam também à lise do colágeno por estimulação das MPMs (RETTORI et al., 2012).

O aumento do ligante do receptor Kappa B (RANKL) e da Osteoprotegerina (OPG), que são encontrados no fluido crevicular gengival podem indicar destruição óssea em pacientes com periodontite. Os mediadores RANK-L e OPG regulam a expressão de osteoclastos através de sua formação e ativação. A relação entre RANKL e OPG é considerada um alvo molecular essencial para diagnóstico da inflamação, além do fato destes marcadores serem apontados como promissores para a intervenção terapêutica (WU et al., 2018).

As doenças periodontais são classificadas nas seguintes categorias: condições da saúde periodontal e gengival (saúde periodontal e gengival, gengivite induzida por biofilme, doença gengival não induzida por biofilme dental), formas de periodontites (periodontites classificadas de acordo com estágio, extensão e evidência ou risco de rápida progressão, periodontite como manifestações de doenças sistêmicas, doenças periodontais necrosantes); manifestações periodontais de doenças sistêmicas (doenças sistêmicas ou condições que afetam o tecido de sustentação periodontal, outras condições periodontais, deformidades e/ou condições desenvolvidas ou adquiridas que afetam o periodonto, fatores oclusais traumáticos, fatores relacionados a prótese ou dente que modificam ou predispõe a doença periodontal/doença gengival induzida por placa); doenças e condições de peri-implantes (G. CATON et al., 2018).

Dentre elas, as manifestações mais comuns da doença periodontal são a gengivite e a periodontite. A gengivite afeta cerca de 90% da população em algum momento de sua vida e a periodontite crônica está presente em 10-15% nos indivíduos (SCULLEY, 2014).

Gengivite é definida como uma inflamação da gengiva onde, apesar das alterações patológicas, o epitélio se mantém unido ao dente, não havendo perda de inserção. É uma situação reversível, caso sejam removidos os fatores etiológicos. Contudo, tem um papel precursor na perda de inserção ao redor dos dentes se os fatores etiológicos não forem eliminados (G. CATON et al., 2018).

A Periodontite corresponde a uma situação de inflamação com destruição do periodonto de sustentação e ocorre quando as alterações patológicas verificadas na gengivite progridem até haver destruição do ligamento periodontal e migração apical do epitélio de união. Existe um acúmulo de biofilme, ao nível dos tecidos subgengivais, causando uma perda de inserção por destruição do tecido conjuntivo e por reabsorção do osso alveolar. Macroscopicamente, a gengiva apresenta-se eritematosa com sinais de inflamação. No entanto, esta característica pode não estar presente, como acontece nos pacientes fumantes nos quais a vasoconstrição provocada pelo tabaco simula ausência de inflamação (VAQUETTE et al., 2018).

Para a obtenção do diagnóstico é necessária a realização de um exame clínico para avaliação da profundidade de sondagem, ou seja, a distância medida em milímetros da margem gengival ao fundo da bolsa utilizando uma sonda milimetrada; nível de inserção, isto é, a distância entre o fundo da bolsa e a junção esmalte-cimento, calculada através da soma da recessão gengival com a profundidade de sondagem; sangramento à sondagem, de forma a determinar a presença de inflamação subgengival; mobilidade dentária e lesões de furca. A avaliação radiográfica também é bastante importante, uma vez que permite verificar se existe ou não perda do osso alveolar. As manifestações clínicas da inflamação gengival são: edema, eritema, aumento do exsudato gengival, sangramento à sondagem, ausência de perda de inserção (ACADEMY et al., 2015).

Quanto às manifestações clínicas da periodontite incluem: perda de inserção clínica, presença de bolsas periodontais, inflamação gengival, reabsorção do tecido ósseo alveolar e mobilidade dentária com possibilidade de perda do dente (LEE et al., 2015).

Além disso, o processo inflamatório do periodonto leva a um aumento das concentrações de proteína C reativa (PCR), e de outros mediadores como o fibrinogênio, TNF- $\alpha$ , IL-6 gerando uma resposta sistêmica exacerbando o meio inflamatório, aumentando a resistência à insulina, além de influenciar a ocorrência e a severidade de doenças sistêmicas (SILVA et al., 2015).

#### **2.4 Relação bidirecional do Diabetes e a Doença Periodontal**

Os produtos finais da glicação e oxidação não enzimática de proteínas e lipídeos (AGEs — advanced glycation end products) e a interação com seus receptores (RAGEs — receptor for advanced glycation end products), imunoglobulinas presentes na superfície de algumas células como fibroblastos, macrófagos, células do endotélio vascular e do tecido periodontal, são vistos como um dos maiores causadores de

complicações crônicas como, retinopatias, nefropatias dentre outras, em indivíduos diabéticos (BEJARANO; TAYLOR, 2018).

Carboidratos aldeídicos ou cetônicos, reagem não-enzimaticamente com grupos amínicos livres encontrados em proteínas, para formarem aldíminas e cetíminas, conhecidas como bases de Schiff ou compostos de Maillard. Essas bases são os primeiros compostos a serem formados na reação de glicação e são instáveis (SCHWITZGEBEL, 2014).

Contudo, períodos prolongados de hiperglicemia e, principalmente, se as proteínas utilizadas na glicação pertencerem a estruturas de longa duração como, colágeno, cristalino, mielina, elastina, mioglobina, hemoglobina, lipoproteínas de baixa densidade que faz com que os complexos de Maillard sofram modificações para cetaminas secundárias, conhecidas como arranjos moleculares de Amadori, que os tornam mais estáveis, porém quimicamente reversíveis (AU et al., 2015).

As condições que originam esses complexos, quando mantidas, permitem o acúmulo dos AGEs, que por serem moléculas estáveis não se degradam mesmo quando os níveis de glicemia retornam à normalidade. Pele, rins, artérias, capilares e proteínas do sangue são os principais locais de depósito dos AGEs. A formação dos AGEs está relacionada ao tempo em que o organismo ficou exposto à hiperglicemia. Portanto, quanto maior a duração do diabetes e pior o controle glicêmico, maior será a quantidade desses produtos circulando e se acumulando em tecidos periodontais. O controle da glicemia é fundamental para se reduzir a formação de AGEs (TAN; TAY; LIM, 2006).

A associação dos AGEs com seus receptores (RAGEs) causa uma produção demasiada de mediadores inflamatórios como a IL-1, IL-6, fator de crescimento I, TNF- $\alpha$ , prostaglandina e fator estimulador de colônias dos granulócitos, por macrófagos. Essas substâncias provocam a transformação do colágeno em compostos menos solúveis, mais resistentes à ação de enzimas e menos flexíveis, o que contribui para a dificuldade de cicatrização encontrada em pacientes diabéticos (SUN et al., 2007).

Além disso, elas ativam osteoclastos e colagenases, acarretando à destruição do osso e tecido conjuntivo, aumentando a progressão e severidade da doença periodontal. Simultaneamente, a infecção periodontal, provoca um aumento de células fagocitárias como os monócitos, que por sua vez contribuem para a hiperglicemia, induzindo um estado crônico de resistência à insulina (CHEE; PARK; BARTOLD, 2013).

O aumento dos AGEs amplifica a destruição tecidual, que resulta no agravamento da doença periodontal e dificuldade do controle glicêmico no indivíduo diabético (BEJARANO; TAYLOR, 2018).

Em tecidos como nervos, cristalino, rins e vasos sanguíneos, o transporte de glicose não depende da insulina. Assim a hiperglicemia resulta nestes tecidos em um aumento intracelular de glicose, que é então metabolizada pela aldose-redutase, sendo reduzida a sorbitol e depois a frutose. Os níveis acumulados de sorbitol e frutose causam aumento da osmolaridade intracelular e influxo de água e conseqüentemente a lesão celular osmótica (TANG; MARTIN; HWA, 2012).

Os níveis elevados de sorbitol adicionalmente a outros mecanismos como glicação não enzimática, lesão oxidativa e formação de imunocomplexos são alguns dos processos patogênicos desencadeadores da microangiopatia, hipoxia tecidual e vasodilatação, que levam à agressão dos tecidos periodontais (WALZ et al., 2016).

A saliva é o principal mecanismo de defesa da cavidade oral, alterações na sua qualidade e quantidade podem acarretar danos à saúde bucal do indivíduo. Nos pacientes portadores de DM, são encontradas algumas alterações na saliva como, hipossalivação e alteração da sua composição, principalmente aquelas relacionadas à elevação dos níveis de glicose, potássio, cálcio, magnésio, proteínas, alfa-amilase, imunoglobulina A (IgA), imunoglobulina G (IgG) e maior atividade da peroxidase (NEGRATO et al., 2013).

A hipossalivação pode ser resultante de neuropatia autonômica, doença microvascular, hiperglicemia, uso de agentes hipoglicêmicos e pH ácido, podendo causar úlceras, queilites e língua fissurada. A maior quantidade de glicose na saliva e líquido gengival crevicular estimula o crescimento bacteriano, reduz a capacidade dos fibroblastos nos processos de cicatrização e aumenta a produção de ácido lático, que conseqüentemente reduz o pH e a atividade tampão da saliva, os quais são fatores de risco para cárie e doença periodontal. O nível de cálcio aumentado na saliva predispõe à formação de cálculo e fatores irritativos nos tecidos periodontais. A elevação da atividade do sistema peroxidase salivar (SPS) pode favorecer para a evolução da gengivite através do exsudato de leucócitos no fluido crevicular gengival. Assim, esses mecanismos são fatores de risco para a doença periodontal (GURAV, 2016).

Indivíduos que apresentam uma resposta imune deficiente demonstram dificuldade em destruir os microorganismos patogênicos, prolongando o processo inflamatório. A inflamação crônica gera radicais livres de oxigênio que ativam metaloproteinases, que destroem o colágeno do ligamento periodontal reduzindo a

fixação do dente ao tecido alveolar e aumentando assim a profundidade do sulco gengival (ZHOU et al., 2013).

Em diabéticos, a atividade dos neutrófilos polimorfonucleares é modificada devido à redução da quimiotaxia, aderência, fagocitose e destruição intracelular, diminuindo a defesa imunológica e a resposta inflamatória desses pacientes. Estas alterações são provenientes, em parte, pela hiperglicemia e acúmulo de AGEs, que estimulam ativação contínua dos polimorfonucleares (resposta hiper-inflamatória) com ativação espontânea da cadeia oxidativa e liberação da mieloperoxidase, elastase e outros elementos dos grânulos neutrofilicos (FOX et al., 2015).

Pacientes diabéticos demonstram níveis séricos e salivares de interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e prostaglandina E2 (PGE2) mais aumentados do que não-diabéticos. Estudos relatam a associação da IL-1 com a perda de inserção conjuntiva e reabsorção óssea alveolar. O TNF- $\alpha$ , produzido por macrófagos ativado por bactérias gram- negativas, estimula a expressão de prostaglandinas e a produção de enzimas líticas como as metaloproteinases reduzindo o reparo celular através da indução da apoptose de células produtoras da matriz. Outro mecanismo de ação do TNF- $\alpha$  seria a piora do controle metabólico do DM, provocando a resistência insulínica (LI et al., 2016).

A PGE2 estimula a vasodilatação, aumentando assim a permeabilidade vascular e induzindo a síntese de metaloproteinases, que degradam a matriz extracelular tecidual, provocando a destruição do tecido conjuntivo. Adicionalmente a PGE2 age no tecido ósseo estimulando a síntese de colagenase por osteoblastos, contribuindo com o início da reabsorção óssea alveolar. Acredita-se, também, que as prostaglandinas sensibilizem células ósseas a outros mediadores químicos, participando indiretamente na reabsorção óssea (LI et al., 2017).

O tecido conjuntivo dos diabéticos apresenta o seu metabolismo prejudicado devido à diminuição da função e do número de fibroblastos menor e maior quantidade de plasmócitos. As características funcionais das moléculas da matriz extracelular são modificadas pela ação dos AGEs. O colágeno foi a primeira proteína que apresentou ligações intermoleculares covalentes produzidas pelos AGEs. Isso dificulta uma cicatrização normal do tecido danificado, o qual é observado com colágeno tipo IV originário da membrana basal glomerular quando submetida à ação das metaloproteinases (WU; XIAO; GRAVES, 2015).

A formação de AGEs no colágeno tipo IV na membrana basal dificulta a associação lateral dessas moléculas em uma estrutura tridimensional complexa que gera

reticulação das fibras de forma anárquica, promovendo aumento da permeabilidade. No colágeno tipo I, a agregação molecular estimula certa distorção da estrutura molecular da fibrila. O fator de crescimento de fibroblastos (FGF) tem a expressão do seu fator básico modificada nos indivíduos diabéticos devido aos níveis de glicose aumentados, causando assim a inibição do crescimento das células do ligamento periodontal (HONG et al., 2016).

A fibronectina (sinalizador para as células do ligamento periodontal entre o meio intra e extracelular) sofre alterações pelos elevados níveis de glicose, gerando alterações morfológicas e morte das células desse ligamento além disso, ocorre redução da resposta quimiotática das células do ligamento periodontal para o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Esse pode ser um dos mecanismos que desfavorecem a cicatrização em indivíduos diabéticos e aumentam a progressão da doença periodontal. A elevação da profundidade do sulco gengival com formação de bolsas gengivais e diminuição da pressão de oxigênio (PO<sub>2</sub>) contribui para proliferação bacteriana e conseqüentemente o agravamento da infecção e inflamação (LIU et al., 2015).

O aumento da glicemia altera o balanço metabólico ocasionando diversas modificações nos tecidos vasculares, como a glicosilação das apoproteínas, glicosilação do colágeno da parede dos vasos, aumento da agregação plaquetária com maior risco de tromboembolismo, aumento da permeabilidade vascular, alteração da atividade da proteína quinase provocando insuficiência vascular periférica gerada pela proliferação das células musculares e acúmulo subendotelial de proteínas do plasma, como a albumina, lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e imunoglobulina G (IgG). Essas transformações no tecido vascular do diabético modificam a difusão do oxigênio, transporte de nutrientes, migração de polimorfonucleares e monócitos/macrófagos e a difusão de anticorpos, provocando descontrole fisiológico resultando na susceptibilidade dos tecidos à doença periodontal (JIMENEZ et al., 2012).

Todas as evidências acima apontam para um ciclo vicioso de diabetes e periodontite exacerbando-se. Além disso, o estado inflamatório da periodontite pode contribuir para a aceleração das doenças cardiovasculares, a principal causa de morte em diabetes.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Considerando o DM uma doença inflamatória com relação bidirecional com a DP pesquisas investigando novos produtos para prevenção e/ou modulação das duas condições simultaneamente são de grande importância. As BGs parecem ser agentes promissores devido às suas propriedades imunomodulatória, hipoglicemiante e hipocolesterolêmica. Estudos investigando níveis ideais de ingestão são necessários para definição da dose ótima do ponto de vista farmacológico, a fim de promover melhor custo benefício à população.

## REFERÊNCIAS

- ACADEMY, T. A. et al. American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. **Journal of Periodontology**, v. 86, n. 7, p. 835–838, 2015.
- ALASQAH, M. et al. Periodontal parameters in prediabetes, type 2 diabetes mellitus, and non-diabetic patients. **Brazilian Oral Research**, v. 32, n. 0, 6 ago. 2018.
- ALVES, C. et al. Mecanismos patogênicos da doença periodontal associada ao diabetes melito. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 7, p. 1050–1057, out. 2007.
- ANDRADE, E. F. et al. Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients : a systematic review. **Nutrición Hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 170–177, 2015.
- ANDRADE, E. F. et al. Exercise and beta-glucan consumption (*Saccharomyces cerevisiae*) improve the metabolic profile and reduce the atherogenic index in type 2 diabetic rats (HFD/STZ). **Nutrients**, v. 8, n. 12, 2016.
- ANDRADE, E. F. et al. Exercise attenuates alveolar bone loss and anxiety-like behaviour in rats with periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 44, n. 11, p. 1153–1163, 2017.
- ARA KOH, F. D. V. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acid as key bacterial metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332–1345, 2016.
- ASSOCIATION AMERICAN DIABETES, A. A. Updates to the Standards of Medical Care in Diabetes-2018. **Diabetes care**, v. 41, n. 9, p. 2045–2047, 2018.
- AU, S. C. L. et al. Association between hyperglycemia and retinopathy of prematurity: A systemic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–6, 2015.
- AW, W.; FUKUDA, S. Understanding the role of the gut ecosystem in diabetes mellitus. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 9, n. 1, p. 5–12, 2018.
- BASHIR, K. M. I.; CHOI, J. S. Clinical and physiological perspectives of  $\beta$ -glucans: The past, present, and future. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 9, 2017.
- BEJARANO, E.; TAYLOR, A. Too sweet: Problems of protein glycation in the eye. **Experimental Eye Research**, 2018.
- BREIVIK, T. et al. Soluble  $\beta$ -1,3/1,6-glucan from yeast inhibits experimental periodontal disease in Wistar rats. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 4, p. 347–352, 2005.
- CANI, P. D. et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-



fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v. 50, n. 11, p. 2374–2383, 2007.

CAO, Y. et al. Hypoglycemic activity of the Baker's yeast beta-glucan in obese/type 2 diabetic mice and the underlying mechanism. **Mol Nutr Food Res**, v. 60, n. 12, p. 2678–2690, 2016.

CARLSSON, Å. L. et al. Insulin and glucagon secretion in patients with slowly progressing autoimmune diabetes (LADA). **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 85, n. 1, p. 76–80, 2000.

CHEE, B.; PARK, B.; BARTOLD, P. M. Periodontitis and type II diabetes: A two-way relationship. **International Journal of Evidence-Based Healthcare**, v. 11, n. 4, p. 317–329, 2013.

CORDEIRO, A. S.; ALONSO, M. J.; DE LA FUENTE, M. Nanoengineering of vaccines using natural polysaccharides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 1279–1293, 1 nov. 2015.

CRAWFORD, J. M.; TAUBMAN, M. A.; SMITH, D. J. The natural history of periodontal bone loss in germfree and gnotobiotic rats infected with periodontopathic microorganisms. **Journal of Periodontal Research**, v. 13, p. 316–325, 1978.

CRESPO, H. et al. Lentinula edodes  $\beta$ -glucan enriched diet induces pro- and anti-inflammatory macrophages in rabbit. **Food & Nutrition Research**, v. 61, n. 1, p. 1412791, 2017.

DE OLIVEIRA SILVA, V. et al.  $\beta$ -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–9, 2015.

DE OLIVEIRA SILVA, V. et al. Promising effects of beta-glucans on metabolism and on the immune responses: Review article. **American Journal of Immunology**, v. 13, n. 1, p. 62–72, 2017.

DELANEY, B. et al. Beta-glucan fractions from barley and oats are similarly antiatherogenic in hypercholesterolemic Syrian golden hamsters. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 2, p. 468–475, 2003.

DONG, J. et al. Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1066–1071, 1 dez. 2011.

EID, L. P. et al. Factors related to self-care activities of patients with type 2 diabetes mellitus. **Escola Anna Nery**, v. 22, n. 4, p. 1–9, 2018.

FOX, C. S. et al. Update on prevention of cardiovascular disease in adults with type 2 diabetes mellitus in light of recent evidence: A scientific statement from the American Heart Association and the American diabetes association. **Diabetes Care**, v. 38, n. 9, p. 1777–1803, 2015.

FRANCELINO ANDRADE, E. et al. Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review. **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 170–7, 1 jan. 2014a.

FRANCELINO ANDRADE, E. et al. Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review. **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 170–7, 1 jan. 2014b.

FRID, A. et al. Effect of oral pre-meal administration of betaglucans on glycaemic control and variability in subjects with type 1 diabetes. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1–8, 2017.

G. CATON, J. et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, n. March, p. S1–S8, 2018.

GAO, R. et al. Interaction of Barley  $\beta$ -Glucan and Tea Polyphenols on Glucose Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 6, p. 128–134, 2012.

GURAV, A. N. Management of diabolical diabetes mellitus and periodontitis nexus: Are we doing enough? **World Journal of Diabetes**, v. 7, n. 4, p. 50, 2016.

HENDARTO, H. et al. GLP-1 analog liraglutide protects against oxidative stress and albuminuria in streptozotocin-induced diabetic rats via protein kinase A-mediated inhibition of renal NAD(P)H oxidases. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 61, n. 10, p. 1422–1434, 2012.

HONG, M. et al. Prevalence and risk factors of periodontitis among adults with or without diabetes mellitus. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 31, n. 5, p. 910–919, 2016.

HURI, H. Z. et al. Association of glycemic control with progression of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus patients in Malaysia. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 2, 26 jul. 2018.

JIMENEZ, M. et al. Type 2 diabetes mellitus and 20 year incidence of periodontitis and tooth loss. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 98, n. 3, p. 494–500, 2012.

KIM, H. S. et al. Stimulatory Effect of  $\beta$ -glucans on Immune Cells. **Immune Network**, v. 11, n. 4, p. 191, 2011.

KIM, Y. S. et al. Effects of Polycan, a  $\beta$ -glucan, on experimental periodontitis and alveolar bone loss in Sprague-Dawley rats. **Journal of Periodontal Research**, v. 47, n. 6, p. 800–810, 2012.

KUSMIATI; DHEWANTARA, F. X. R. Cholesterol-lowering effect of beta glucan extracted from *saccharomyces cerevisiae* in rats. **Scientia Pharmaceutica**, v. 84, n. 1, p. 153–165, 2016.

LEE, J. H. et al. Association of lifestyle-related comorbidities with periodontitis: A nationwide cohort study in Korea. **Medicine (United States)**, v. 94, n. 37, p. 1–5, 2015.

LI, L. et al. Association between interleukin-19 and angiotensin-2 with vascular complications in type 2 diabetes. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 7, n. 6, p. 895–900, 2016.

LI, Y. et al. Prostaglandin E2 in the regulation of water transport in renal collecting ducts. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 1–12, 2017.

LIRA NETO, J. C. G. et al. Prevalence of Metabolic Syndrome in individuals with Type 2 Diabetes Mellitus TT - Prevalencia del Síndrome Metabólico en personas con Diabetes Mellitus tipo 2 TT - Prevalência da Síndrome Metabólica em pessoas com Diabetes Mellitus tipo 2. **Rev Bras Enferm**, v. 70, n. 2, p. 265–270, 2017.

LIU, M. et al. The anti-diabetic activity of oat  $\beta$ -d-glucan in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1170–1176, 1 out. 2016.

LIU, Q. et al. DKK1 rescues osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from periodontal ligaments of patients with diabetes mellitus induced periodontitis. **Scientific Reports**, v. 5, n. July, p. 1–11, 2015.

MAGEE, M. F.; BHATT, B. A. Management of Decompensated Diabetes. **Critical Care Clinics**, v. 17, n. 1, p. 75–106, 2001.

MARAKALALA, M. J. et al. Dectin-1 plays a redundant role in the immunomodulatory activities of  $\beta$ -glucan-rich ligands in vivo. **Microbes and Infection**, v. 15, n. 6–7, p. 511–515, 2013.

MARTINEZ-FLORES, H. E. et al. Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. **Nutrition Research**, v. 24, n. 1, p. 85–93, 1 jan. 2004.

MARTINEZ, F. O. et al. Transcriptional Profiling of the Human Monocyte-to-Macrophage Differentiation and Polarization: New Molecules and Patterns of Gene Expression. **The Journal of Immunology**, v. 177, n. 10, p. 7303–7311, 2006.

MEE-KYOUNG LIM, SAE-KWANG KU, J.-S. C. AND J.-W. K. Effect of polycan, a  $\beta$

glucan originating from *Aureobasidium*, on a high fat diet induced hyperlipemic hamster model. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 9, n. 4, p. 1369–1378, 2015.

MICHAUD, D. S. et al. A prospective study of periodontal disease and pancreatic cancer in US male health professionals. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 99, n. 2, p. 171–175, 2007.

MORRIS, G. J. et al. Effect of Osmotic Stress on the Ultrastructure and Viability of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of General Microbiology**, v. 132, n. 7, p. 2023–2034, 1986.

MOUTSOPOULOS, N. M.; MADIANOS, P. N. Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: Paradigm of periodontal infections. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1088, p. 251–264, 2006.

NEGRATO, C. A. et al. Periodontal disease and diabetes mellitus. **Journal of applied oral science : revista FOB**, v. 21, n. 1, p. 1–12, 2013.

OH, T. W. et al. Semipurified fractions from the submerged-culture broth of *agaricus blazei murill* reduce blood glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4113–4119, 2010.

OLIVEIRA, E. A. DE et al. Influence of Type 1 Diabetes on the Symbolic Analysis and Complexity of Heart Rate Variability in Young Adults. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 94–101, 2018.

RETTORI, E. et al. Anti-inflammatory effect of the endocannabinoid anandamide in experimental periodontitis and stress in the rat. **NeuroImmunoModulation**, v. 19, n. 5, p. 293–303, 2012.

RODACKI, M. et al. Relato de caso: diabetes Flatbush - da cetoacidose ao tratamento não-farmacológico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 1, p. 131–135, fev. 2007.

ROGLIC, G. et al. The burden of mortality attributable to diabetes: Realistic estimates for the year 2000. **Diabetes Care**, v. 28, n. 9, p. 2130–2135, 2005.

RYDÉN, A. et al. The humanistic burden of Type 1 Diabetes Mellitus in Europe: Examining health outcomes and the role of complications. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, p. 1–14, 2016.

SCHWITZGEBEL, V. M. Many faces of monogenic diabetes. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 5, n. 2, p. 121–133, 2014.

SCULLEY, D. V. Periodontal disease: modulation of the inflammatory cascade by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Periodontal Research**, v. 49, n. 3, p.

277–281, jun. 2014.

SHEN, R. L. et al. Hypoglycemic effects and biochemical mechanisms of oat products on streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 16, p. 8895–8900, 2011.

SILVA, N. et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 3, p. 329–355, 2015.

SILVA, V. DE O. et al. Effect of probiotic administration on the immune response: a systematic review of experimental models in rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 5, p. 685–694, 2012.

SIMA, P.; VETVICKA, L. V. AND V.  $\beta$ -glucans and cholesterol (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 41, n. 4, p. 1799–1808, 2018.

STIER, H.; EBBESKOTTE, V.; GRUENWALD, J. Immune-modulatory effects of dietary Yeast Beta-1,3/1,6-D-glucan. **Nutrition Journal**, v. 13, n. 1, p. 1–9, 2014.

SUN, Y.-P. et al. Resolvin D1 and Its Aspirin-triggered 17R Epimer: STEREOCHEMICAL ASSIGNMENTS, ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES, AND ENZYMATIC INACTIVATION. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 13, p. 9323–9334, 30 mar. 2007.

TAN, W.; TAY, F.; LIM, L. Diabetes as a risk factor for periodontal disease: current status and future considerations. **Annals, Academy of Medicine Singapore**, v. 35, n. 8, p. 571–581, 2006.

TANG, W. H.; MARTIN, K. A.; HWA, J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3 MAY, n. May, p. 1–8, 2012.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiol Rev**, v. 81, n. 3, p. 1031–1064, 2001.

VAQUETTE, C. et al. Tissue Engineered Constructs for Periodontal Regeneration: Current Status and Future Perspectives. **Advanced Healthcare Materials**, v. 1800457, p. 1800457, 2018.

VIEIRA LOBATO, R. et al. Metabolic Effects of B-Glucans (*Saccharomyces Cerevisiae*) Per Os Administration in Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. **Nutrición hospitalaria**, v. 32, n. 1, p. 256–64, 2015.

WALZ, L. et al. Risk factors for fatal hyperglycaemia confirmed by forensic postmortem examination - A nationwide cohort in Sweden. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–15, 2016.

WILSON, D. R. et al. New-onset diabetes and ketoacidosis with atypical antipsychotics.

**Schizophrenia Research**, v. 59, n. 1, p. 1–6, 1 jan. 2003.

WU, Y.-H. et al. Effects of theaflavins on tissue inflammation and bone resorption on experimental periodontitis in rats. **J Periodont Res**, n. April, p. 1–11, 2018.

WU, Y. Y.; XIAO, E.; GRAVES, D. T. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. **International journal of oral science**, v. 7, n. 2, p. 63–72, 2015.

ZEKOVIĆ, D. B. et al. Natural and Modified (1→3)- $\beta$ -D-Glucans in Health Promotion and Disease Alleviation. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 4, p. 205–230, 10 jan. 2005.

ZHOU, M. et al. Investigation of the Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on Subgingival Plaque Microbiota by High-Throughput 16S rDNA Pyrosequencing. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGO**

**ARTIGO - EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE  $\beta$  –GLUCANA  
(*Saccharomyces cerevisiae*) SOBRE O METABOLISMO E CONTROLE DA  
DOENÇA PERIODONTAL EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR  
ESTREPTOZOTOCINA**

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA),  
Lavras 37200-000, Minas Gerais, Brasil;

Departamento Ciências da Saúde, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras  
37200-000, Minas Gerais, Brasil

**Resumo:** As  $\beta$ -glucanas (BGs) são polissacarídeos que podem ser obtidos da parede celular de fungos, bactérias e plantas. Conhecidas pela sua ação funcional como fibras solúveis, as  $\beta$ -glucanas apresentam efeitos metabólicos e de modulação imunológica. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento com diferentes níveis de  $\beta$ -Glucana (BG) isoladas de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o perfil metabólico e inflamatório de ratos diabéticos induzidos por injeção intraperitoneal de estreptozotocina e com doença periodontal (DP), induzida por ligadura. Um total de 40 ratos *wistar* foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n=8) e estes foram tratados por gavagem com BGs durante 28 dias com as respectivas dosagens de: 0mg/kg; 10mg/kg; 20mg/kg; 40mg/kg e 80mg/kg. No décimo quarto dia foi realizada a ligadura nos primeiros molares inferiores bilateralmente. Ao final do período, os animais foram eutanasiados e os níveis séricos de colesterol total (CT), triacilgliceróis (TAG) e lipoproteínas de alta densidade (HDL-C) bem como as lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL-C+VLDL-C) foram determinados. A reabsorção óssea alveolar foi verificada através da análise morfométrica. Os dados foram avaliados por Análise de Variância seguido do teste Dunnett a 5% ( $p < 0,05$ ). Houve menor reabsorção óssea alveolar bem como redução da glicemia e TAG à partir da dose de 40mg/kg ( $p < 0,05$ ). No entanto para as variáveis CT, LDL-C+VLDL-C e HDL-C somente foram encontrados benefícios significativos na dose de 80mg/kg ( $p < 0,05$ ). Conclui-se que houve efeito dose- dependente das BGs na prevenção da reabsorção óssea alveolar, bem como sobre parâmetros metabólicos em ratos diabéticos com doença periodontal.

**Palavras-chave:** Diabetes *mellitus*, doenças crônicas, fibras alimentares, inflamação, periodontite



## 1.Introdução

O Diabetes *mellitus* é uma doença crônica não transmissível caracterizada por hiperglicemia persistente decorrente da deficiência na secreção de insulina, resistência insulínica ou ambos. O DM tipo 1, caracterizado pela deficiência na produção de insulina – geralmente de causa autoimune ou idiopática – representa cerca de 5 a 10% dos diabéticos, sendo mais comum em certos países europeus (em particular na Finlândia e na província italiana da Sardenha). Nesses países, tem sido reportados aumentos anuais na incidência de diabetes tipo 1, chegando até 3,3% especialmente em crianças menores de 5 anos de idade (RYDÉN et al., 2016).

O controle glicêmico inadequado no diabetes tipo 1 está relacionado a diversos danos sobre a retina, sistema nervoso, rins, coração, vasos sanguíneos e sobre o periodonto. A hiperglicemia crônica induz a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs – *advanced glycation end products*) levando ao aumento da oxidação não enzimática de proteínas e lipídeos. A ativação de seus receptores (RAGEs – *receptor for advanced glycation end products*) na superfície de algumas células como fibroblastos, macrófagos, células do endotélio vascular e do tecido periodontal aumentam a morbidade e mortalidade no DM (BEJARANO; TAYLOR, 2018). Dentre as comorbidades mais prevalentes destacam-se as alterações cardiovasculares e a doença periodontal (DP) (LEE et al., 2015).

A Doença Periodontal (DP) é uma doença inflamatória que afeta os tecidos de suporte e sustentação dos dentes iniciada pela presença de biofilme misto composto predominantemente por bactérias gram-negativas (VAQUETTE et al., 2018). O lipoplissacarídeo (LPS) é um dos principais componentes da membrana de bactérias gram-negativas e desencadeia uma resposta imunológica intensa por parte do hospedeiro. Este fato se deve a ativação de macrófagos, células dendríticas e neutrófilos que estimulam a produção de citocinas pró- inflamatórias como a interleucina-6, a interleucina 1 $\beta$  e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), responsáveis pela ativação dos osteoclastos e consequente reabsorção óssea; bem como das colagenases que degradam o tecido conjuntivo, provocando em conjunto a perda de inserção epitelial, a formação de bolsas periodontais, mobilidade dental e até mesmo eventual perda dos dentes (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2015).

Indivíduos diabéticos apresentam maior prevalência e severidade de DP quando comparados a indivíduos saudáveis (LEE et al., 2015). Alguns mecanismos tem sido

descritos nessa relação incluindo, alterações na resposta imune celular produzindo incremento na síntese de citocinas pró-inflamatórias provenientes de monócitos e leucócitos polimorfonucleares (PNM), além da diminuição na formação de fatores de crescimento provenientes de macrófagos (predispondo mais inflamação e dificultando o reparo tecidual (LI et al., 2016). De forma semelhante, a DP prejudica o controle glicêmico, devido a participação de citocinas, dentre elas o TNF- $\alpha$  liberado pela inflamação gengival, atuando em receptores periféricos causando resistência insulínica e estimulando o metabolismo inflamatório do adipócito. Assim DM e DP são duas doenças crônicas sinérgicas, cujas complicações apresentam um impacto negativo significativo na qualidade de vida, longevidade e gastos com saúde (JIMENEZ et al., 2012).

Neste contexto, substâncias com efeitos metabólicos e imunomoduladoras vem sendo estudadas. As BGs possuem ação hipoglicêmica conhecida na literatura, uma vez que formam uma camada gelatinosa no intestino reduzindo assim a absorção de carboidratos e conseqüentemente diminuindo a glicemia. (FRANCELINO ANDRADE et al., 2014a), bem como os níveis plasmáticos de colesterol total e triacilgliceróis (ZEKOVIĆ et al., 2005). Ademais, estudos recentes de nosso grupo tem demonstrado efeitos benéficos do consumo de BG não somente sobre parâmetros metabólicos, mas também sobre parâmetros inflamatórios sistêmicos e no tecido gengival de ratos diabéticos com DP (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2015). Porém até o presente momento a dose ótima para promover melhor custo-benefício ainda permanece desconhecida.

Sugere-se que as BGs atuem nos mecanismos de defesa do organismo, através da ativação da resposta imune via sistema complemento, diretamente, ou através de anticorpos induzindo a migração de leucócitos para o local da infecção, melhorando a resposta imune do hospedeiro (MARAKALALA et al., 2013). Esse efeito parece estar relacionado com os produtos da sua fermentação no lúmen intestinal – os ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) – que desencadeiam efeitos anti-inflamatórios sistêmicos através da produção de imunoglobulina A e citocinas imunossupressoras, tais como, interleucina 4 e interleucina 10 (ARA KOH, 2016). Devido a relação bidirecional entre o DM e a DP, pesquisas identificando a melhor dose de um composto terapêutico (nutracêutico) são de extremo interesse. Apesar de notáveis evidências de estudos epidemiológicos e experimentais sobre os benefícios das BGs, ainda é limitada a indicação mais precisa da dose a ser ingerida.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso de BGs isoladas de *Saccharomyces cerevisiae* em diferentes concentrações em ratos diabéticos com DP, e

verificar a dose ideal capaz de promover maiores benefícios no controle metabólico e na diminuição da reabsorção óssea alveolar.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1 Animais**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais (CEUA), protocolo (N041/17) da Universidade Federal de Lavras (UFLA, MG, Brasil). O ensaio *in vivo* foi conduzido no Biotério Central da Universidade Federal de Lavras – UFLA. Foram utilizados 40 ratos, machos, adultos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem *Wistar*, pesando inicialmente 100g-150g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno medindo 41 x 34 x 17,5 cm, com maravalha (raspas de madeira para absorção de urina e água). Os ratos foram divididos aleatoriamente em grupos, sendo acomodados no máximo quatro animais por caixa. As caixas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura constante de  $23 \pm 2$  °C e ciclos claro-escuro de 12/12hs. Após um período de aclimação de sete dias as caixas foram identificadas aleatoriamente, sendo definidos 5 grupos contendo 8 animais em cada (n=8) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Grupos experientais de ratos Wistar machos induzidos ao Diabetes *mellitus* por injeção intraperitoneal de estreptozotocina (70mg/kg) e com doença periodontal induzida por ligadura tratados com diferentes níveis de  $\beta$ -Glucana obtidas de *Saccharomyces cerevisiae* diluída em 0,3ml de solução salina durante 28 dias.

Grupos	N	Tratamento
1	8	Gavagem Solução salina
2	8	Gavagem 10 mg/Kg de $\beta$ -Glucana diluída em solução salina
3	8	Gavagem 20 mg/Kg de $\beta$ -Glucana diluída em solução salina
4	8	Gavagem 40 mg/Kg de $\beta$ -Glucana diluída em solução salina
5	8	Gavagem 80 mg/Kg de $\beta$ -Glucana diluída em solução salina

N= número de animais por grupo

## 2.2 Indução do diabetes *mellitus* experimental

A indução do DM foi realizada pela administração intraperitoneal de 70 mg/kg de estreptozotocina (Sigma, ST. Louis, MO, EUA) dissolvida em tampão citrato (HENDARTO et al., 2012) 48 horas antes de iniciar o tratamento. Os animais foram submetidos a jejum de oito horas e posteriormente foi mensurada a glicemia através de amputação da ponta da cauda, utilizando glicosímetro ( Accutrend® Plus). Foram considerados diabéticos os animais com glicemia em jejum acima de 200 mg/dL (Figura 1).

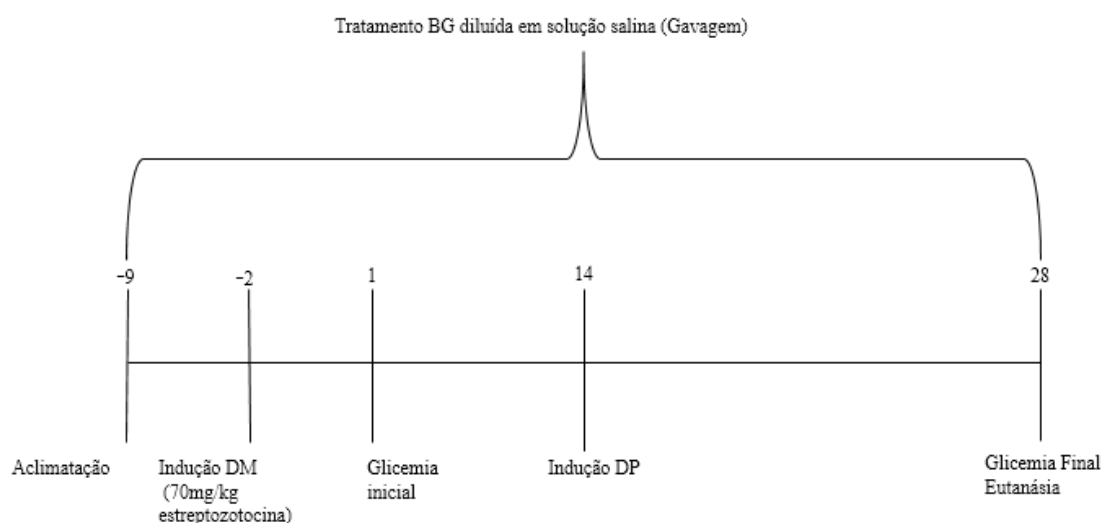
## 2.3 Indução da DP

A DP foi induzida nos animais através do protocolo de ligadura com fio de algodão nos primeiros molares mandibulares direito e esquerdo. Os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal de xilazina (10 mg/kg) e cetamina (80 mg/kg) e após estabelecido o plano anestésico, receberam a ligadura de acordo com metodologia

previamente descrita (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2015). Esta indução ocorreu no décimo quarto dia de experimento (t=14). A doença periodontal foi induzida por 14 dias (Figura 1).

#### 2.4 Administração da $\beta$ -Glucana

A  $\beta$ -Glucana utilizada foi proveniente do extrato da membrana celular de *Saccharomyces cerevisiae*:  $\beta$ -Glucanas – Mínimo de 60%; Proteína Bruta – Máximo 8%; pH (soluo 2%) 4,0-7,0; Cinza - Máximo 10,0 / 100 g. Distribuição do tamanho de partícula: média - 41  $\mu$ m; <20  $\mu$ m, 19%; 20 a 50  $\mu$ m, 43%; 50 a 100  $\mu$ m, 28%; 100 a 200  $\mu$ m, 10%; > 200  $\mu$ m, 0%. Fluidez (segundos) foi de 70,2; ângulo de repouso (graus), 31,2; compressibilidade, 37%; capacidade de retenção de água (média), 7,4; taxa de solubilidade em água, 7,9. Foram administradas através de gavagem, doses diárias de  $\beta$ -Glucana diluída em 0,3 ml de solução salina nos animais do experimento. De acordo com o grupo experimental pertencente, os animais receberam, durante 28 dias, doses diárias de: 0 mg/kg (somente solução salina), 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/Kg e 80 mg/kg de  $\beta$ -Glucana (Figura 1 e Tabela 1).



**Figura 1.** Representação esquemática do delineamento experimental ao longo do tempo

## 2.5 Coleta do material para análise

### 2.5.1 Análises séricas - Colesterol total e frações

Foram coletadas amostras sanguíneas dos animais em jejum no início (t=1 dias) e ao final do experimento (t=28) através de amputação da ponta da cauda, para avaliação da glicemia usando o glicosímetro (Accutrend® Plus). Para mensuração da glicemia os animais foram mantidos em jejum de oito horas. Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados. Para garantir a ausência de dor ou sofrimento, foi administrada anestesia prévia com 50mg/ kg de tiopental sódico via intraperitoneal. A eutanásia ocorreu por punção cardíaca após anestesia. Foram coletadas amostras de sangue para determinação dos níveis de CT, TAG e HDL-C utilizando-se kits comerciais colorimétricos enzimáticos (Labtest®, Lagoa Santa-MG, Brasil). Os níveis de LDL-C + VLDL-C de cada animal foram analisados através de equação ( $CT - HDL = LDL + VLDL$ ) (MARTINEZ-FLORES et al., 2004).

### 2.5.2 Análise morfométrica da reabsorção óssea alveolar

As mandíbulas foram coletadas para determinação dos graus de reabsorção óssea alveolar, sendo avaliadas após a remoção do tecido mole através de método morfométrico (DE OLIVEIRA SILVA et al., 2015).

As peças foram fixadas em solução de formalina a 10%. Posteriormente, foram imersas em peróxido de hidrogênio a 30% durante 2 horas para facilitar a remoção mecânica dos tecidos moles. Após a exposição óssea, foi feita coloração com Azul de metileno 1% durante 1 minuto para delimitação da junção cimento-esmalte (CEJ).

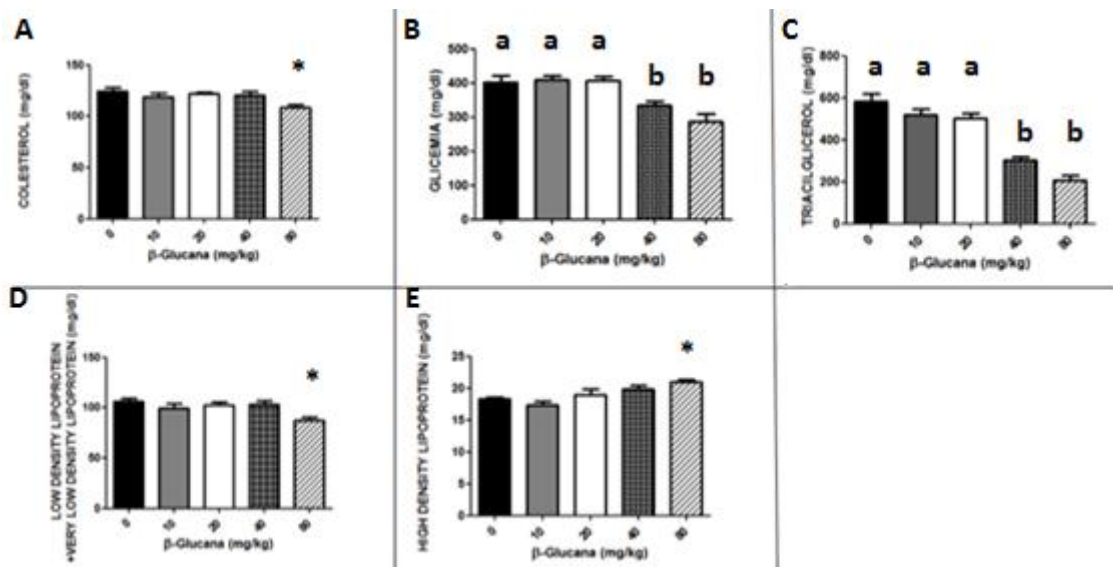
As mandíbulas foram observadas em estereomicroscópio com uma câmera de vídeo acoplada a um computador e as imagens registradas com aumento de 20x e armazenadas. A distância entre a crista óssea alveolar e CEJ foi medida na metade de cada raiz do primeiro molar seguindo seu longo eixo. As medições lineares da junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar na metade de cada raiz seguindo o eixo foram realizadas de acordo com a metodologia previamente descrita. (CRAWFORD; TAUBMAN; SMITH, 1978). As mensurações foram obtidas das três raízes do primeiro molar na face lingual utilizando o *software* de análise *Image J* (Bethesda, MD, USA), por um examinador treinado e desconhecedor dos grupos experimentais. A média das três medidas foram utilizadas para expressar a reabsorção óssea alveolar de cada animal.

### 3. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições por tratamento. As análises estatísticas foram realizadas através da Análise de Variância (ANOVA). As médias e desvio padrão (DP) dos tratamentos, quando significativas foram comparadas pelo teste de Dunnett a 5 % ( $p < 0,05$ ).

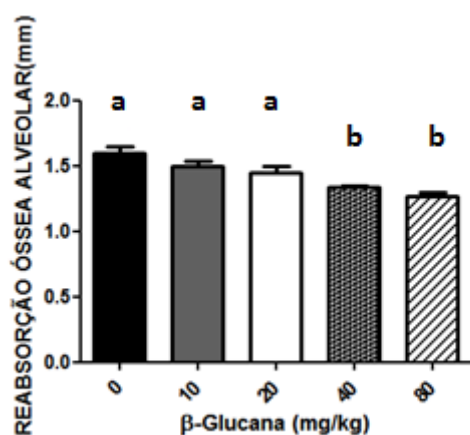
### 4. Resultados

Analisando os parâmetros metabólicos, os tratamentos com as doses de 40mg/kg e 80mg/kg reduziram significativamente a glicemia e os níveis de TAG quando comparados ao grupo sem BG, (Figura 2B e 2C respectivamente;  $p < 0,05$ ). No entanto foi observado aumento significativo nos níveis de HDL-C e redução dos níveis do CT e LDL-C+VLDL-C, somente no grupo experimental que recebeu a dose de 80mg/kg quando comparado ao grupo controle (Figura 2E, 2A e 2D respectivamente;  $p < 0,05$ ).

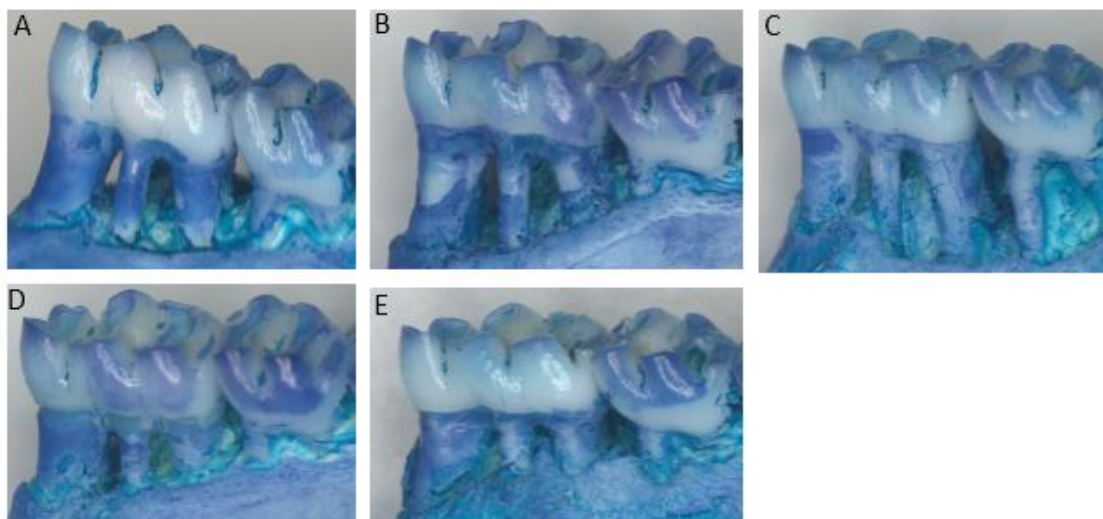


**Figura 1.** Parâmetros metabólicos de ratos Wistar machos induzidos ao Diabetes *Mellitus* por injeção intraperitoneal de estreptozotocina 70mg/kg e com doença periodontal induzida por ligadura tratados com diferentes níveis de  $\beta$ -glucana de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias; <sup>a</sup> não difere do controle (0mg/kg) pelo teste Dunnett ( $p < 0,05$ ); <sup>b</sup> difere do controle (0mg/kg) pelo teste Dunnett ( $p < 0,05$ ) \*difere do controle (0mg/kg) pelo teste Dunnett ( $p < 0,05$ ).

Em relação a reabsorção óssea alveolar houve uma redução significativa nos grupos que receberam as doses de 40mg/kg e 80mg/kg quando comparados ao grupo controle que recebeu 0mg/kg/dia (Figura 3;  $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** Reabsorção óssea alveolar (mm – média  $\neq$  desvio padrão) de ratos Wistar machos induzidos ao Diabetes *Mellitus* por injeção intraperitoneal de estreptozotocina 70mg/kg e com doença periodontal induzida por ligadura tratados com diferentes níveis de  $\beta$ -glucana de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias; não difere do controle (0mg/kg) pelo teste Dunnett ( $p < 0,05$ ); <sup>b</sup> difere do controle (0mg/kg) pelo teste Dunnett ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.** Análise morfológica de ratos Wistar machos induzidos ao Diabetes *Mellitus* por injeção intraperitoneal de estreptozotocina 70mg/kg e com doença periodontal induzida por ligadura tratados com diferentes níveis de  $\beta$ -glucana de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias. **A** controle (0mg/kg); **B** (10mg/kg); **C** (20mg/kg); **D** (40mg/kg); **E** (80mg/kg). Apenas um animal representativo por grupo é apresentado nesta figura.



## 5. Discussão

Os resultados do presente estudo demonstraram efeito dose - dependente de BG sobre parâmetros metabólicos e para reabsorção óssea alveolar em ratos diabéticos com doença periodontal. Efeitos benéficos foram detectados a partir da dose de 40mg/kg, porém os melhores resultados foram alcançados no grupo experimental que recebeu a dose mais alta de BG de 80mg/kg, com redução dos níveis séricos de colesterol total (CT) e lipoproteína de baixa densidade e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C+LDL-C), e um aumento nas concentrações das lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), quando comparados ao grupo controle que não recebeu BG ( $p < 0,05$ ).

Esses resultados corroboram com estudo prévio com hamsters hiperlipidêmicos tratados com diferentes doses de BGs (31,25mg/kg; 62,5mg/kg; 125mg/kg) extraída de *A. Pullulans* durante 56 dias. Houve diminuição acentuada no perfil lipídico no grupo que recebeu a dose de BG de 125mg/kg quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), demonstrando também melhor efeito com a maior dose (MEE-KYOUNG LIM, SAE-KWANG KU, 2015). Outros estudos conduzidos com hamsters obesos tratados com diferentes doses de BG (2g, 4g, 8g) provenientes de cevada ou aveia, durante 49 dias apresentaram também redução nos níveis plasmáticos de CT e LDL-C na dose de 4g e 8g de BG independente da fonte cevada ou aveia, no entanto não houve diminuição de CT e LDL-C em hamsters consumindo 2g de BG de qualquer fonte. Constatando que os efeitos da BG foram dependentes da dose e independentes da fonte (DELANEY et al., 2003). Estes estudos foram conduzidos com animais obesos e/ou recebendo dieta hipercolesterolêmica. Em relação aos níveis de TAG, houve uma redução significativa a partir da dose de BG de 40mg/kg quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), em consonância com estudo com ratos Sprague Darley hiperlipidêmicos, tratados com doses semelhantes de BGs (10mg/kg/dia; 20mg/kg/dia; 30mg/kg/dia e 40mg/kg/dia) extraídas de *Saccharomyces cerevisiae*. Houve diminuição nos níveis plasmáticos de TAG somente no grupo que recebeu a dose de BG de 40mg/kg quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ) (KUSMIATI; DHEWANTARA, 2016).

Porém estudo prévio do nosso grupo, com ratos induzidos ao DM tratados com dose única de 30mg/Kg de BG de *Saccharomyces cerevisiae* durante 28 dias demonstrou uma redução de 32% na concentração plasmática de TAG (VIEIRA LOBATO et al., 2015). Similarmente, uma redução nos níveis de TAG, CT e LDL-C e aumento nas concentrações plasmáticas de HDL-C foram evidenciadas em trabalho com ratos

diabéticos tratados com 200mg/kg de BG de cevada durante 3 semanas (GAO et al., 2012), corroborando os presentes resultados.

As principais alterações lipoproteicas no DM tipo1 são hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, sendo as principais causas de doenças cardiovasculares (NWOSU et al., 2018). As BGs possuem efeitos hipocolesterolêmicos atribuídos a capacidade dessa fibra dietética solúvel em formar soluções viscosas que prolongam o esvaziamento gástrico, inibem o transporte de triacilgliceróis e colesterol através do intestino e reduzem as concentrações totais de LDL-C (SIMA; VETVICKA, 2018).

O efeito hipoglicemiante também está associado com a alta viscosidade do quimo relacionada com a capacidade de absorver água da BG, diminuindo a absorção de carboidratos e provocando um declínio na resistência insulínica (LIU et al., 2016). Outro mecanismo de ação hipoglicemiante que pode ser atribuído as BGs pode estar ligada a supressão do transportador de glicose e sódio (SGLT-1) na mucosa do intestino e modulação da microbiota intestinal (CAO et al., 2016), além da redução da atividade das dissacaridasas intestinais especialmente em doses altas de BG (DONG et al., 2011) e melhora na atividade da enzima succinato desidrogenase, aumentando a utilização da glicose e conseqüentemente provocando redução da glicemia (SHEN et al., 2011).

Os resultados deste trabalho demonstraram ainda uma redução da reabsorção óssea alveolar a partir da dose de 40mg/kg de BG ( $p < 0,05$ ). Esses achados corroboram estudo com Polycan ( $\beta$ -glucana extraído da levedura *Aureobasidium pullulans*) em ratos Sprague-Dawley induzidos a periodontite experimental, tratados com diferentes doses de BG (0mg/kg; 21 mg/kg; 25mg/kg; 42,5mg/kg; 85mg/kg) durante 10 dias indicando que os grupos que receberam doses superiores a 42mg/kg apresentaram diminuições mais significativas ( $p < 0,05$ ), nas concentrações de interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), mieloperoxidasas (MPO), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) no tecido gengival e na redução da reabsorção óssea alveolar, além de um declínio da atividade gengival da Óxido nítrico sintase (iNOS), e nas concentrações de Melondialdído (MDA), promovendo efeito protetor das BGs na periodontite através de ação antioxidante e antiinflamatória dependente da dose (KIM et al., 2012).

A ação das  $\beta$ -glucanas nas células do sistema imunológico estão sendo elucidados. A ação imunomoduladora das  $\beta$ -glucanas são relacionadas à ativação de macrófagos que possuem receptores típicos na superfície celular chamados receptores de reconhecimento de padrões PRRs – especialmente a dectina-1 e o receptor do tipo *Tooll-like* (TLR), que detectam inatamente moléculas não próprias, incluindo padrões

moleculares associados a patógenos (PAMPs) (LEE et al., 2015). As  $\beta$ -Glucanas podem agir como PAMPs e são reconhecidos pelos PRRs, uma vez que as  $\beta$ -glucanas não podem penetrar diretamente na membrana celular por causa do seu grande tamanho molecular (MARAKALALA et al., 2013). Após a ligação com a  $\beta$ -glucana, os PRRs induzem a cascata de sinalização e ativam as células do sistema imunológico. O receptor de complemento 3 (CR3), receptores de escape (SR) e lactosilceramida (LacCer), também podem estar envolvidos (KIM et al., 2011).

Estudos prévios do presente grupo demonstraram efeitos benéficos das BGs provenientes de *Saccharomyces cerevisiae* no metabolismo e na reabsorção óssea alveolar (SILVA et al., 2012; FRANCELINO ANDRADE et al., 2014a; FRANCELINO ANDRADE et al., 2014b; ANDRADE et al., 2015; DE OLIVEIRA SILVA et al., 2015; VIEIRA LOBATO et al., 2015; ANDRADE et al., 2016; ANDRADE et al., 2017; DE OLIVEIRA SILVA et al., 2017) com dose única de 30mg/kg.

Este estudo sugere que as  $\beta$ -glucanas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* têm propriedades imunomoduladoras e metabólicas dose-dependentes e que estas podem se tornar ferramentas auxiliares no controle de pacientes diabéticos com doença periodontal.

## 6. Conclusão

Conclui-se que houve efeito dose-dependente das BGs na prevenção da reabsorção óssea alveolar, bem como sobre parâmetros metabólicos em ratos diabéticos com doença periodontal, sendo a maior dose de 80mg/kg a mais efetiva.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Ensino Superior e Pós-Graduação (CAPES).

## Referências

- ANDRADE, E. F. et al. Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients : a systematic review. **Nutrición Hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 170–177, 2015.
- ANDRADE, E. F. et al. Exercise and beta-glucan consumption (*Saccharomyces cerevisiae*) improve the metabolic profile and reduce the atherogenic index in type 2 diabetic rats (HFD/STZ). **Nutrients**, v. 8, n. 12, 2016.
- ANDRADE, E. F. et al. Exercise attenuates alveolar bone loss and anxiety-like behaviour in rats with periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 44, n. 11, p. 1153–1163, 2017.

ARA KOH, F. D. V. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acid as key bacterial metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332–1345, 2016.

AW, W.; FUKUDA, S. Understanding the role of the gut ecosystem in diabetes mellitus. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 9, n. 1, p. 5–12, 2018.

BEJARANO, E.; TAYLOR, A. Too sweet: Problems of protein glycation in the eye. **Experimental Eye Research**, 2018.

CAO, Y. et al. Hypoglycemic activity of the Baker's yeast beta-glucan in obese/type 2 diabetic mice and the underlying mechanism. **Mol Nutr Food Res**, v. 60, n. 12, p. 2678–2690, 2016.

CRAWFORD, J. M.; TAUBMAN, M. A.; SMITH, D. J. The natural history of periodontal bone loss in germfree and gnotobiotic rats infected with periodontopathic microorganisms. **Journal of Periodontal Research**, v. 13, p. 316–325, 1978.

DE OLIVEIRA SILVA, V. et al.  $\beta$ -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–9, 2015.

DE OLIVEIRA SILVA, V. et al. Promising effects of beta-glucans on metabolism and on the immune responses: Review article. **American Journal of Immunology**, v. 13, n. 1, p. 62–72, 2017.

DELANEY, B. et al. Beta-glucan fractions from barley and oats are similarly antiatherogenic in hypercholesterolemic Syrian golden hamsters. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 2, p. 468–475, 2003.

DONG, J. et al. Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1066–1071, 1 dez. 2011.

FRANCELINO ANDRADE, E. et al. Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review. **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 170–7, 1 jan. 2014a.

FRANCELINO ANDRADE, E. et al. Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review. **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 170–7, 1 jan. 2014b.

GAO, R. et al. Interaction of Barley  $\beta$ -Glucan and Tea Polyphenols on Glucose Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 6, p. 128–134, 2012.

HENDARTO, H. et al. GLP-1 analog liraglutide protects against oxidative stress and albuminuria in streptozotocin-induced diabetic rats via protein kinase A-mediated inhibition of renal NAD(P)H oxidases. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 61, n. 10, p. 1422–1434, 2012.

JIMENEZ, M. et al. Type 2 diabetes mellitus and 20 year incidence of periodontitis and tooth loss. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 98, n. 3, p. 494–500, 2012.

KIM, H. S. et al. Stimulatory Effect of  $\beta$ -glucans on Immune Cells. **Immune Network**, v. 11, n. 4, p. 191, 2011.

KIM, Y. S. et al. Effects of Polycan, a  $\beta$ -glucan, on experimental periodontitis and alveolar bone loss in Sprague-Dawley rats. **Journal of Periodontal Research**, v. 47, n. 6, p. 800–810, 2012.

KUSMIATI; DHEWANTARA, F. X. R. Cholesterol-lowering effect of beta glucan extracted from *saccharomyces cerevisiae* in rats. **Scientia Pharmaceutica**, v. 84, n. 1, p. 153–165, 2016.

LEE, J. H. et al. Association of lifestyle-related comorbidities with periodontitis: A nationwide cohort study in Korea. **Medicine (United States)**, v. 94, n. 37, p. 1–5, 2015.

MAGEE, M. F.; BHATT, B. A. Management of Decompensated Diabetes. **Critical Care**

**Clinics**, v. 17, n. 1, p. 75–106, 2001.

MARAKALALA, M. J. et al. Dectin-1 plays a redundant role in the immunomodulatory activities of  $\beta$ -glucan-rich ligands in vivo. **Microbes and Infection**, v. 15, n. 6–7, p. 511–515, 2013.

MARTINEZ-FLORES, H. E. et al. Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. **Nutrition Research**, v. 24, n. 1, p. 85–93, 1 jan. 2004.

MARTINEZ, F. O. et al. Transcriptional Profiling of the Human Monocyte-to-Macrophage Differentiation and Polarization: New Molecules and Patterns of Gene Expression. **The Journal of Immunology**, v. 177, n. 10, p. 7303–7311, 2006.

MEE-KYOUNG LIM, SAE-KWANG KU, J.-S. C. AND J.-W. K. Effect of polycan, a  $\beta$  glucan originating from *Aureobasidium*, on a high fat diet induced hyperlipemic hamster model. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 9, n. 4, p. 1369–1378, 2015.

NEGRATO, C. A. et al. Periodontal disease and diabetes mellitus. **Journal of applied oral science : revista FOB**, v. 21, n. 1, p. 1–12, 2013.

NWOSU, B. U. et al. Children with type 1 diabetes who experienced a honeymoon phase had significantly lower LDL cholesterol 5 years after diagnosis. **PLoS ONE**, v. 13, n. 5, p. 1–13, 2018.

OLIVEIRA, E. A. DE et al. Influence of Type 1 Diabetes on the Symbolic Analysis and Complexity of Heart Rate Variability in Young Adults. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 94–101, 2018.

RYDÉN, A. et al. The humanistic burden of Type 1 Diabetes Mellitus in Europe: Examining health outcomes and the role of complications. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, p. 1–14, 2016.

SCHWITZGEBEL, V. M. Many faces of monogenic diabetes. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 5, n. 2, p. 121–133, 2014.

SHEN, R. L. et al. Hypoglycemic effects and biochemical mechanisms of oat products on streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 16, p. 8895–8900, 2011.

SILVA, N. et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 3, p. 329–355, 2015.

SILVA, V. DE O. et al. Effect of probiotic administration on the immune response: a systematic review of experimental models in rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 5, p. 685–694, 2012.

SIMA, P.; VETVICKA, L. V. AND V.  $\beta$ -glucans and cholesterol (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 41, n. 4, p. 1799–1808, 2018.

VAQUETTE, C. et al. Tissue Engineered Constructs for Periodontal Regeneration: Current Status and Future Perspectives. **Advanced Healthcare Materials**, v. 1800457, p. 1800457, 2018.

VIEIRA LOBATO, R. et al. Metabolic Effects of B-Glucans (*Saccharomyces Cerevisiae*) Per Os Administration in Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. **Nutrición hospitalaria**, v. 32, n. 1, p. 256–64, 2015.

ZEKOVIĆ, D. B. et al. Natural and Modified (1→3)- $\beta$ -D-Glucans in Health Promotion and Disease Alleviation. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 4, p. 205–230, 10 jan. 2005.

## ANEXO

### Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos dos níveis de  $\beta$ -glucana no controle do diabetes, doença periodontal e artrite reumatoide em ratos", protocolo nº 041/17, sob a responsabilidade de Luciano José Pereira, Andressa Naira de Jesus Pereira, Janina de Sales Guilarducci e Diana Vilela Azzi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 01/08/2017.

Vigência da autorização: de 01/09/2017 a 01/09/2019

Finalidade: ( ) Ensino (x) Pesquisa Científica

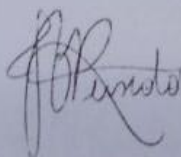
Espécie/linhagem/raça: Rato heterogênico / Wistar

Número de animais aprovados: 140

Peso/Idade: 100-150 g / 42 dias

Sexo: macho

Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA): Biotério Central Multiusuário da Universidade Federal de Lavras - Coordenadora: Prof<sup>a</sup>. Christiane Malfitano.



Prof. Juliano Vogas Peixoto  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICATE

We certify that the proposal entitled "Effects of  $\beta$ -glucans levels in the control of diabetes, periodontal disease and rheumatoid arthritis in rats" Protocol No. 041/17, under the responsibility of Luciano José Pereira, Andressa Naira de Jesus Pereira, Janina de Sales Guillarducci and Diana Vilela Azzi, which involves the production, maintenance and / or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except man), for purposes of teaching and / or scientific research, is in accordance with the provisions of Law No. 11.794, of October 8, 2008, Decree No. 6899 of July 15, 2009, and with the standards required by the National Council Animal Experimentation Control (CONCEA), the Ministry of Science, Technology and Innovation (MCTI), and was approved by ETHICS COMMITTEE ON ANIMAL USE (CEUA) of the Dean of Research / UFLA in meeting 8/01/2017.

Authorization validity: 9/01/2017 to 9/01/2019

Finality: ( ) Teaching (x) Scientific research

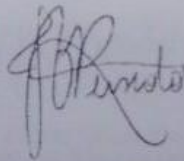
Species / strain / breed: Heterogenic rats / Wistar

Number of approved animals: 140

Weight / Age: 100-150 g / 42 days

Sex: male

Origin of animals (document presented by the responsible researcher and filed by CEUA): Biotério Central Multiusuário da Universidade Federal de Lavras - Coordenadora: Prof<sup>a</sup>. Christiane Malfitano.



Prof. Juliano Vogas Peixoto  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

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