

## **O uso da melatonina como adjuvante à terapia periodontal não-cirúrgica – uma revisão de literatura**

### **The use of melatonin as an adjuvant to non-surgical periodontal therapy - a literature review**

DOI:10.34117/bjdv7n5-600

Recebimento dos originais: 07/04/2021

Aceitação para publicação: 27/05/2021

#### **Renan Castelo do Carmo**

Graduado em Odontologia

Centro Universitário Católica de Quixadá

Endereço: Rua Juvêncio Alves, 660, Centro, Quixadá - CE

E-mail: renancastelo.c@gmail.com

#### **Expedito Martins Torres Junior**

Graduando em Odontologia

Centro Universitário Maurício de Nassau

Endereço: Avenida Aguanambi, 251, José Bonifácio, Fortaleza - CE

E-mail: jtorres1899@yahoo.com

#### **Gabriella Farias Bezerra Duarte**

Graduando em Odontologia

Centro Universitário Maurício de Nassau

Endereço: Avenida Aguanambi, 251, José Bonifácio, Fortaleza – CE

E-mail: gabrielafariass@gmail.com

#### **Dayane Vitória Tamboril de Andrade**

Graduando em Odontologia

Centro Universitário Maurício de Nassau

Endereço: Avenida Aguanambi, 251, José Bonifácio, Fortaleza – CE

E-mail: dayaneandrdecj@gmail.com

#### **Cleginaldo Torres de Mesquita**

Graduando em Odontologia

Centro Universitário Maurício de Nassau

Endereço: Avenida Aguanambi, 251, José Bonifácio, Fortaleza – CE

E-mail: cleginaldotorres@gmail.com

#### **Aurilene Gomes Cajado**

Doutoranda em Farmacologia

Universidade Federal do Ceará (Programa de Pós-Graduação em Farmacologia)

Endereço: Rua Coronel Nunes de Melo, 1000, Rodolfo Teófilo, Fortaleza Ceará

E-mail: agcajado@gmail.com

**Salma Ivanna Araújo Cavalcante**

Docente do Curso de Odontologia da Uninassau  
Centro Universitário Maurício de Nassau

Endereço: Avenida Aguanambi, 251, José Bonifácio, Fortaleza – CE  
E-mail: salmaaraujo12@hotmail.com

**Mariana Vasconcelos Guimarães\***

Docente do Curso de Odontologia da Uninassau  
Centro Universitário Maurício de Nassau

Endereço: Avenida Aguanambi, 251, José Bonifácio, Fortaleza – CE  
E-mail: marianav\_guimaraes@yahoo.com.br

**RESUMO**

Dada à alta prevalência da periodontite e seu reconhecimento mundial como uma doença infectoinflamatória destrutiva, pesquisas científicas têm se dedicado ao desenvolvimento de ferramentas farmacológicas, inclusive hormonais, que melhorem a responsividade do paciente à terapia periodontal não-cirúrgica (TPNC). Nesse contexto, a melatonina (MEL) é uma substância que tem se destacado por seu potencial anti-inflamatório e protetor ósseo, embora seja conhecida habitualmente como hormônio do sono e reguladora da homeostase de diversos tecidos. O presente estudo objetivou revisar a literatura científica sobre o potencial uso da MEL como adjuvante à TPNC. Para isso, foi realizada uma revisão de literatura de caráter descritivo, quantitativo e qualitativo, com base em artigos selecionados no banco de dados PubMed, a partir dos descritores “*melatonin*” AND “*periodontitis*” AND “*treatment*”. Após leitura do resumo de 20 artigos encontrados, foram selecionados 14 manuscritos que avaliaram diretamente as vantagens do uso da MEL na TPNC, sendo excluídos aqueles que utilizaram a MEL em associação à outra substância, bem como outras revisões de literatura. Dos estudos clínicos revisados, 4 deles encontraram benefícios da utilização da MEL em adição a TPNC, com redução da extensão do dano periodontal e das condições inflamatórias locais e sistêmicas dos pacientes. Alguns desses estudos associaram doenças sistêmicas caracterizadas por elevação sérica de mediadores inflamatórios à periodontite e verificaram benefícios ainda superiores da MEL. Tais resultados foram de acordo com aqueles encontrados em estudos em animais, nos quais, de forma geral, a MEL reduziu os danos relacionados à reabsorção óssea e se mostrou eficaz em acelerar a cicatrização periodontal, além de ter reduzido os níveis séricos de mediadores inflamatórios em animais com periodontite experimental e/ou outras doenças sistêmicas. Observou-se que a MEL pode ser potencialmente valiosa no tratamento de doenças periodontais, em decorrência especialmente de seu potencial anti-inflamatório.

**Palavras-chave:** Periodontite, Melatonina, Tratamento.

**ABSTRACT**

Given the high prevalence of periodontitis and for being worldwide known as a destructive disease, scientific research have been dedicated to the development of pharmacological tools, including hormones, that improve the patient's responsiveness to non-surgical periodontal therapy (NSPT), which is characterized by coronal-radicular scraping and smoothing. Among these tools, melatonin (MEL) is a substance that has stood out as an anti-inflammatory agent and bone protector, although it is commonly known as a sleep hormone and regulator of homeostasis of various tissues. This study aimed to review the scientific literature on the potential use of the MEL as an adjuvant to

homeostasis. To this end, a descriptive, quantitative and qualitative literature review was performed, based on articles selected from the PubMed database, using the descriptors "melatonin" AND "periodontitis" AND "treatment". After reading the abstract of 20 articles found, 14 manuscripts were selected that directly evaluated the advantages of using the MEL in NSPT, being excluded those that used the MEL in association with the other substance, as well as other literature reviews. Of the clinical studies reviewed, 4 of them found benefits of using the MEL in addition to NSPT, reducing the extent of periodontal damage and local and systemic inflammatory conditions of patients. Some of these studies associated systemic diseases characterized by elevated serum inflammatory mediators with periodontitis and found even greater benefits of the MEL. These results were in line with those found in animal studies, in which, in general, the MEL reduced the damage related to bone resorption and proved effective in accelerating periodontal healing, in addition to reducing serum levels of inflammatory mediators in animals with experimental periodontitis and/or other systemic diseases. It was observed that the MEL can be potentially valuable in the treatment of periodontal diseases, especially due to its anti-inflammatory potential.

**Keywords:** Periodontitis, Melatonin, Treatment.

## 1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença infecto-inflamatória cujo fator principal etiológico é o biofilme dentário composto por uma grande variedade microbiológica de bactérias. Frente a tal desafio microbiano, ocorre uma resposta imuno-inflamatória primariamente com função de defesa no hospedeiro (SLOTS *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2015; CEKICI *et al.*, 2014). Entretanto, contrariamente, a exacerbação desta resposta mediante permanência do agente agressor tem sido descrita, há décadas, na literatura científica como crucial para os eventos destrutivos observados na periodontite (CEKICI *et al.*, 2014). De fato, a extensão e o grau da doença em questão estão diretamente relacionados ao nível de inflamação dos tecidos periodontais do hospedeiro.

Dentre os micro-organismos comumente associados à doença periodontal estão: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus* e *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, assim como os treponemas (RAFIEI *et al.*, 2017). Estes produzem suas endotoxinas, sobretudo na forma de lipopolissacarídeos (LPS), componente presente nas membranas externas de bactérias gram negativo (CHOI *et al.*, 2011; TORRUNGRUANG *et al.*, 2015). Além de outros padrões bacterianos, o LPS, por sua vez, é um potente ativador de receptores de reconhecimento Toll-like (TLR), os quais estão presentes na superfície de células inflamatórias residentes e atuam diretamente na ativação da imunidade inata e indução de respostas inflamatórias inata, ocasionando o aumento do processo inflamatório por meio

da produção exacerbada de mediadores químicos da inflamação (MEDZHITOV, 2001), dentre eles o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  e as interleucinas (ILs) - 1 $\beta$  e IL-6.

A liberação aumentada destes mediadores químicos da inflamação intensifica o processo inflamatório e culmina no estímulo aumentado à osteoclastogênese, além da maior destruição das fibras colágenas do ligamento do periodonto (NOH *et al.*, 2013). A chegada de células inflamatórias de reforço ao local da injúria tecidual é importante para aumentar a atividade fagocitária neste ambiente e iniciar a resolução do processo infecto-inflamatório. Caso a resposta inflamatória desencadeada não obtenha êxito em eliminar adequadamente o estímulo microbiano, estabelece-se um processo inflamatório crônico com degradação progressivamente mais extensa dos tecidos periodontais (CEKICI *et al.*, 2014).

Tem sido bem estabelecido na literatura científica que as referidas citocinas pró-inflamatórias apresentam atividades osteoclastogênicas diretas e indiretas (NOH *et al.*, 2013; CEKICI *et al.*, 2014). De fato, doenças sistêmicas inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide e psoríase, também são caracterizadas por reabsorção óssea inflamatória, de forma semelhante ao que se observa na periodontite, indicando uma relação aproximada entre os sistemas imune e ósseo (VLOT *et al.*, 2018).

A terapia periodontal não-cirúrgica (TPNC) envolve a remoção de fatores retentivos do biofilme e conseqüente diminuição da carga microbiana local, sendo realizado especialmente através de raspagem e desbridamento radicular (GOMES *et al.*, 2014). Alguns compostos químicos com atividades antimicrobiana e anti-inflamatória podem ser utilizados como adjuvantes para melhorar a responsividade do paciente a este tratamento periodontal (ARWEILER *et al.*, 2014; JEPSEN K e JEPSEN S., 2016; PRIYANKA *et al.*, 2015). Nesse contexto, um dos compostos que têm atraído atenção de pesquisadores em busca de terapias químicas adjuvantes periodontais é a melatonina (MEL) (MARIA; WITT-ENDERBY, 2014; ARABACI *et al.*, 2015).

Inicialmente, a MEL esteve associada, sobretudo, à reorganização do sistema endógeno, promoção do sono e regulação dos ciclos reprodutivos sazonais (ARENDR, 1998). Estudos mostram, adicionalmente, que a MEL é uma molécula mais versátil, apresenta um papel neuroprotetor, antienvelhecimento e anticancerígeno, além de antioxidante e anti-inflamatório (HARDELAND, 2018; ZHU *et al.*, 2018). Com relação a estas duas últimas características, estudos científicos sugerem que a MEL exerce efeitos anti-inflamatórios ao interferir com a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como

TNF- $\alpha$ , IL-1, e IL-6, em diferentes condições fisiopatológicas (MAURIZ *et al.*, 2013; HABTEMARIAM, 2011; YU *et al.*, 2017). Assim, considerando tais propriedades biológicas, a presente revisão torna-se relevante por avaliar, através dos resultados de pesquisas científicas atuais, se a MEL tem potencial adjuvante a TPNC.

## 2 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão de literatura de caráter descritivo, quantitativo e qualitativo. Em razão disso, os seguintes descritores, em inglês, foram selecionados a partir do banco de dados *Medical Subject Headings (Mesh)* “melatonin” AND “periodontitis” AND “treatment”, cujos correspondentes em português são “Melatonina”, “Periodontite” e “Tratamento” e utilizados no banco de dados Pubmed. Foram selecionados artigos de pesquisas científicas pré-clínicas e clínicas, publicados a partir de 2010 até 2021, diretamente relacionados com o uso da MEL na TPNC. Enquanto isso, foram excluídos artigos que utilizaram a MEL em associação à outra substância na TPNC e outras revisões de literatura sobre o assunto.

## 3 RESULTADOS

Dentre os ensaios clínicos selecionados, 05 estudos (TINTO *et al.*, 2019; BAZYAR *et al.*, 2018; SHARKAWY *et al.*, 2018; MONTERO *et al.*, 2017; ABDOLSAMADI *et al.*, 2014) foram realizados prospectivamente em pacientes com periodontite, sistemicamente saudáveis ou diabéticos, e submetidos a TPNC associado ou não o uso da MEL, em que os pacientes foram avaliados quanto aos parâmetros periodontais clínicos, como profundidade de sondagem (PS) (TINTO *et al.*, 2019; BAZYAR *et al.*, 2018; SHARKAWY *et al.*, 2018; MONTERO *et al.*, 2017), sangramento à sondagem (SS) (BAZYAR *et al.*, 2018; SHARKAWY *et al.*, 2018; MONTERO *et al.*, 2017; BERTL *et al.*, 2013), nível de inserção clínico (NIC) (BERTL *et al.*, 2013), índice de sangramento gengival (ISG) (TINTO *et al.*, 2019) e índice de placa (IP) (TINTO *et al.*, 2019); bem como por níveis séricos de mediadores inflamatórios (BAZYAR *et al.*, 2018; MONTERO *et al.*, 2017) e salivares de MEL (ABDOLSAMADI *et al.*, 2014; BERTL *et al.*, 2013). A saber, 04 destes estudos (TINTO *et al.*, 2019; BAZYAR *et al.*, 2018; SHARKAWY *et al.*, 2018; BERTL *et al.*, 2013) encontraram benefícios da utilização da MEL em adição a TPNC, com redução da extensão do dano periodontal e das condições inflamatórias locais e sistêmicas dos pacientes. Enquanto isso, um estudo

retrospectivo (ABDOLSAMADI *et al.*, 2014) corroborou tais resultados, sugerindo uma possível relação íntima entre os níveis salivares de MEL e a regressão de doenças inflamatórias, como a periodontite e a diabetes mellitus.

Ainda, quanto aos 08 estudos pré-clínicos realizados em animais com periodontite induzida (VIRTO *et al.*, 2018; VIRTO *et al.*, 2018; RENN *et al.*, 2018; KÖSE *et al.*, 2016; YUCE *et al.*, 2016; ARABACI *et al.*, 2015; GULLE *et al.*, 2014, KARA *et al.*, 2012), 07 estudos observaram redução significativa dos danos teciduais causados pela exacerbação da resposta inflamatória da periodontite à administração sistêmica de MEL (VIRTO *et al.*, 2018; VIRTO *et al.*, 2018; RENN *et al.*, 2018; KÖSE *et al.*, 2016; YUCE *et al.*, 2016; ARABACI *et al.*, 2015; GULLE *et al.*, 2014), através de análises de imunohistoquímica e bioquímica de marcadores inflamatórios e do metabolismo ósseo no tecido gengival, em hemiarcadas mandibulares e de forma sérica. Adicionalmente, alguns desses estudos associaram doenças sistêmicas caracterizadas por elevação sérica de mediadores inflamatórios à periodontite e verificaram benefícios ainda superiores da MEL (VIRTO *et al.*, 2018; VIRTO *et al.*, 2018; YUCE *et al.*, 2015).

A Tabela 1 contém uma breve descrição de cada estudo de forma agrupada, com relação às suas metodologias e principais resultados.

**Tabela 1 – Descrição dos estudos selecionados para a presente revisão de literatura**

AUTOR	REVISTA	AMOSTRA	PARÂMETROS ANALISADOS	METODOLOGIA	RESULTADOS
<b>ESTUDOS EM HUMANOS</b>					
Tinto <i>et al.</i> , 2019	Journal of Periodontal Research	20 pacientes	Os parâmetros periodontais avaliados foram profundidade de sondagem (PS) e os índices de sangramento gengival (ISG) e de placa (IP).	Estudo clínico randomizado e prospectivo. Pacientes diagnosticados com periodontite estágio III. Grupos experimentais: (1) Placebo e (2) Tratado com Melatonina. Em todos os pacientes, foi realizada a terapia periodontal não-cirúrgica (TPNC). De acordo com o grupo, os pacientes receberam diariamente, por via oral, placebo ou melatonina (1 mg).	A TPNC foi eficaz para melhorar os parâmetros periodontais avaliados.
Bazyar <i>et al.</i> , 2018	Inflammopharmacology	50 pacientes	Os pacientes foram avaliados sistemicamente quanto aos níveis séricos de melatonina, de fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), de interleucina-6 (IL-6) e de proteína hs-C reativa (hs-CRP). Os parâmetros periodontais avaliados foram nível de inserção clínica (NIC), PS, sangramento na sondagem (SS) e IP.	Estudo clínico randomizado e prospectivo. Pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2 e Periodontite Crônica. Grupos experimentais: (1) Placebo e (2) Tratado com Melatonina. Em todos os pacientes, foi realizada a TPNC. De acordo com o grupo, os pacientes receberam diariamente, por via oral, placebo ou melatonina (6 mg) antes de dormir.	Os pacientes que receberam a administração de melatonina tiveram maiores reduções dos níveis de IL-6 e hs-PCR.

Sharkawy <i>et al.</i> , 2018	Journal of Periodontal Research.	64 pacientes	Os pacientes foram avaliados sistemicamente quanto à escala de insônia. Os parâmetros periodontais avaliados foram NIC, PS e SS. Também foram avaliadas as alterações nos níveis salivares de TNF- $\alpha$ .	Ensaio clínico randomizado e prospectivo. Pacientes com Insônia primária e Periodontite Crônica. Grupos experimentais: (1) Placebo e (2) Tratado com Melatonina. Em todos os pacientes, foi realizada a TPNC. De acordo com o grupo, os pacientes receberam diariamente, por via oral, placebo ou melatonina (10 mg), antes de dormir, iniciando-se logo após a TPNC e por um período de 2 meses. Os pacientes foram avaliados no <i>baseline</i> , 3 e 6 meses após a TPNC e por um período de 6 meses.	A TPNC foi efetiva para melhorar os parâmetros periodontais avaliados após 3 e 6 meses. Os pacientes que receberam a administração de melatonina apresentaram melhores resultados quanto ao NIC e PS quando comparado ao grupo placebo.
Montero <i>et al.</i> , 2018	Journal of Clinical and Experimental Dentistry	90 pacientes	Os parâmetros periodontais avaliados foram PS e SS. Além disso, os níveis de IL-1 $\beta$ , IL-6 e prostaglandina (PG)-E2 foram avaliados no fluido crevicular dos pacientes.	Ensaio clínico randomizado e prospectivo. Grupos experimentais: (1) Pacientes diabetes tipo I ou II e periodontite recebendo placebo, (2) Pacientes diabetes tipo I ou II e periodontite tratado com melatonina tópica (1% creme orabase) e (3) indivíduos saudáveis.	Os pacientes diabéticos apresentaram, maiores valores dos parâmetros avaliados quando comparados aos dos indivíduos saudáveis.
Abdolsamadi <i>et al.</i> , 2014	Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects	120 pacientes	O status periodontal foi avaliado pelo Índice Periodontal Comunitário (IPC). Amostras de sangue também foram coletadas para análise dos níveis de glicemia em jejum.	Ensaio clínico randomizado e retrospectivo. Grupos experimentais: (1): Pacientes saudáveis, sem histórico de diabetes tipo II ou periodontite, (2): Pacientes com diabetes Tipo II, sem periodontite, (3): Pacientes sistemicamente saudáveis, com Periodontite, Grupo (4): Pacientes com diabetes Tipo II e Periodontite. Amostras de saliva foram coletadas dos pacientes após 12h de jejum e período noturno, para avaliação dos níveis salivares de melatonina.	Os níveis de melatonina em pacientes com periodontite ou diabetes são estatisticamente inferiores, quando comparados aos pacientes sistemicamente saudáveis e sem periodontite. Em pacientes com periodontite e diabetes, tais níveis encontraram-se com redução ainda superior.

Bertl <i>et al.</i> , 2013	Clinical Investigations	Oral	60 pacientes	O status periodontal foi avaliado através de radiografias periapicais e dos exames PS, NIC e SS de todos os pacientes.	Ensaio clínico randomizado e prospectivo. Grupos experimentais: (1) Pacientes saudáveis, sem histórico de periodontite (2) Pacientes com periodontite. Amostras de saliva e sanguíneas foram coletadas dos pacientes após 12h de jejum para avaliação dos níveis séricos e salivares de melatonina e níveis plasmáticos de proteína C reativa (PCR). Em todos os pacientes, foi realizada a TPNC.	Apresentaram níveis salivares de melatonina reduzidos, porém com parâmetros periodontais e níveis séricos de PCR elevados.
<b>ESTUDOS EM ANIMAIS COM PERIODONTITE</b>						
Virto <i>et al.</i> , 2018	Journal of Clinical Periodontology		42 ratos <i>Wistar</i>	Os parâmetros periodontais considerados foram o ISG, IP, PS e SS. Sistemicamente, foram avaliados os níveis séricos de osteocalcina (CO), osteopontina (OPN), leptina, insulina, inibidor do ativador do plasminogênio (PAI), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e E-selectina, bem como de citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ e proteína quimioatraente de monócito (MCP -1).	Estudo <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1) não obesos, submetidos à indução de periodontite e TPNC realizado por meio de raspagem e alisamento radicular (RAR); (2) não obesos, submetidos à indução de periodontite e TPNC realizada por meio de RAR e administração tópica de solução clorexidina e cloreto de cetilpiridínio (3) não obesos, submetidos à indução de periodontite e TPNC realizada por meio de RAR e administração de melatonina; (4 a 6) os mesmos grupos para animais obesos.	Tanto em animais obesos quanto em animais não obesos, a TPNC com ou sem adjuvantes foi efetiva para melhorar os parâmetros periodontais. Quando comparado ao grupo controle positivo, o uso da melatonina reduziu o SS.
Virto <i>et al.</i> , 2018	Journal of Periodontal Research		28 ratos <i>Wistar</i>	Todos os parâmetros avaliados em estudo mencionado anteriormente, de mesma autoria, foram considerados.	Estudo <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1) não obesos; (2) obesos (3) não obesos, submetidos à periodontite e (4) obesos, submetidos à periodontite. A periodontite foi induzida pela	Os resultados indicaram que a concentração de melatonina mudou nos quatro grupos, mostrando menores índices nos animais obesos.

				combinação dos espécimes <i>Porphyromona gingivalis</i> e <i>Fusobacterium nucleatum</i> .	
Renn <i>et al.</i> , 2018	Journal of Pineal Research	56 ratos <i>Wistar</i>	O tecido gengival subjacente à área desafiada em cada animal foi removido após eutanásia para avaliação bioquímica ou por ELISA de TLR4/MyD88, RANKL, OPG, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ . As hemiarcadas maxilares também foram removidas para análises morfométricas e histológicas. Os níveis séricos de melatonina também foram avaliados.	Estudo <i>in vivo</i> . Os animais foram alocados aleatoriamente em 8 grupos (I, II, III, IV, V, VI e VII) com 7 ratos em cada. Animais dos 3 primeiros grupos receberam injeção intraperitoneal de melatonina diariamente, nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, respectivamente, por 28 dias; 14 antes e 14 após a indução da periodontite. Os grupos IV, V e VI receberam as mesmas dosagens somente após a indução da periodontite. Os ratos do grupo VII foram submetidos à indução da periodontite e não receberam algum tratamento. A extensão de perda óssea, a intensidade do mineral ósseo e a intensidade do cálcio foram avaliados nas hemiarcadas mandibulares coletadas após eutanásia dos animais.	Altos índices de RANKL/OPG, atividade TLR4/MyD88 e citocinas pró-inflamatórias após a indução da periodontite. Nos animais tratados com melatonina os índices avaliados quase retornaram aos seus níveis normais, com alteração mais significativa nos ratos que receberam a dose de 100mg.
Köse <i>et al.</i> , 2016	Journal of Periodontal Research	60 ratos <i>Sprague Dawley</i>	Foram avaliados parâmetros associados aos níveis de estresse oxidativo por análise bioquímica, bem como níveis séricos de telopeptídeo C terminal do colágeno tipo I (CTX), IL1- $\beta$ e TNF- $\alpha$ , além de mensuração óssea radiográfica destruição periodontal e análise imunohistoquímica para RANKL.	Estudo <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1): controle sistemicamente saudável, sem tratamento; (2) Periodontite (3) Radioterapia, com exposição a uma dose única de irradiação; (4): Periodontite e radioterapia logo após a remoção da ligadura; (5) Radioterapia, recebendo tratamento melatonina; (6): Periodontite e dose única de irradiação e tratados com	Os resultados mostram que a melatonina reduziu significativamente os parâmetros de estresse oxidativo avaliados e os níveis séricos de IL-1 $\beta$ e de CTX, os quais foram elevados pela periodontite e/ou radioterapia, com menor degeneração de colágeno.

				melatonina (10 mg/kg), iniciando 1 hora antes da irradiação por 15 dias. Os grupos 2, 3 e 4 foram tratados com uma dose diária intraperitoneal de 0,5 mL de solução salina, os grupos 5 e 6 foram tratados com uma dose diária intraperitoneal de 10 mg/kg de melatonina.	
Yuce <i>et al.</i> , 2016	Journal of Periodontology.	of 52 ratos <i>Wistar</i>	Foram realizadas análises morfológicas de reabsorção óssea, séricas de IL-1 $\beta$ , imunohistoquímica para expressões de Óxido nítrico sintase (iNOS) e Proteína X associada a bcl-2 (BAX) e os níveis séricos de IL-1 $\beta$ e de fosfatase ácida resistente a tartarato (TRAP).	Estudo <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1) controle; (2) Diabetes; (3) Diabetes, com tratamento com Melatonina; (4) Periodontite; (5) Periodontite, com tratamento com Melatonina; (6) Diabetes e periodontite; (7) Diabetes e periodontite, com tratamento com Melatonina. O diabetes mellitus foi induzido por injeção intraperitoneal de dose única de estreptozotocina (STZ) (60 mg/kg). A periodontite foi induzida por ligadura.	A melatonina diminuiu a perda óssea alveolar.
Arabaci <i>et al.</i> , 2015	Journal of Periodontology	of 24 ratos <i>Sprague-Dawley</i>	Foram realizadas análises radiográficas, bem como dos marcadores séricos relacionados à renovação óssea, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina óssea (b-ALP) e CTX.	Estudo <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1) controle; (2) Periodontite; (3) Periodontite e tratamento com Melatonina.	A melatonina reduziu os danos de reabsorção óssea alveolar e se mostrou eficaz na cicatrização periodontal.
Gulle <i>et al.</i> , 2014	Journal of Periodontal Research	18 ratos <i>Wistar</i>	Após eutanásia, tecidos do fígado, rim e pulmão foram removidos para investigação por microscopia. Os níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), alanina transaminase (ALT) e nitrogênio da uréia no sangue (BUN) foram analisados.	Ensaio <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1) Controle; (2) Periodontite; (3) Periodontite e tratamento com melatonina. A periodontite foi induzida pela administração intrasulcular de Lipopolissacarídeo (LPS). Os animais tratados com melatonina receberam 50 mg/kg de melatonina.	A periodontite induzida por LPS causou aumento significativo de AST, ALT e BUN, que foram reduzidos.

Kara <i>et al.</i> , 2012	Free Radical Biology & Medicine	30 ratos <i>Wistar</i>	No tecido gengival, foi avaliado um marcador de estresse oxidativo 8-hidroxi-20-deoxiguanosanos (8-OHdG). Sistemicamente, foram avaliados os níveis séricos de IL-1 $\beta$ e TNF- $\alpha$	Estudo <i>in vivo</i> . Grupos experimentais: (1): Controle; (2): Periodontite; (3): Periodontite e tratamento com melatonina. A periodontite foi induzida por ligadura, que permaneceu por 4 semanas.	Histologicamente, observou-se redução do infiltrado leucocitário
---------------------------	---------------------------------	------------------------	---	--	--

Legenda da tabela: Índice de Sangramento Gengival (ISG), Índice de Placa (IP), Profundidade de Sondagem (PS), Sangramento na Sondagem (SS), Terapia Periodontal Não-cirúrgica (TPNC), Proteína hs-C reativa, (hs-CRP), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucinas (IL-1, IL-6, IL-1 $\beta$ ), Prostaglandina ((PG)-E2), Índice Periodontal Comunitário (IPC), Hemoglobina glicada (HbA1c), Proteína C reativa (PCR), Nível de Inserção Clínica (NIC), Proteína Quimioatraente de Monócito (MCP-1), Osteoprotegerina (OPG), Sistema Ativador do Receptor kappa B (RANK), Receptor Ativador do Fator Nuclear kappa B ligante (RANKL), Receptor do tipo Toll 4 (TLR4), Molécula adaptadora fator de diferenciação mielóide 88 (MyD88), Telopeptídeo C terminal de colágeno tipo I (CTX), Óxido nítrico sintase (Inos), Proteína X associada a bcl-2 (BAX), Fosfatase Alcalina Óssea (b-ALP), Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Transaminase (ALT), Nitrogênio da Uréia no Sangue (BUN), Marcador de Estresse Oxidativo 8-hidroxi-20-deoxiguanosanos (8-OHdG), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA).

#### 4 DISCUSSÃO

Está bem estabelecido que na periodontite grandes quantidades de mediadores inflamatórios são secretadas especialmente por macrófagos, como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , que regulam as células T (HAJISHENGALLIS, 2013). É interessante salientar que o dano tecidual observado nesta doença está intimamente relacionado à concentração de tais mediadores pró-inflamatórios no fluido crevicular e no periodonto (KAYAL, 2013). De acordo com a presente revisão de literatura, a MEL, quando administrada sistemicamente aos pacientes com periodontite, foi capaz de reduzir os parâmetros periodontais inflamatórios e, em 3 estudos, tais resultados estiveram associados à redução da atividade de mediadores inflamatórios, além da mesma ter atuado como potente antioxidante (BERTL *et al.*, 2013; BAZYAR *et al.*, 2018; SHARKAWY *et al.*, 2018).

A saber, tais mediadores conseguem alcançar a corrente sanguínea e fazer com que a periodontite apresente inter-relação a outras doenças sistêmicas, como o diabetes e a obesidade, as quais são caracterizadas por inflamação sistêmica por outras etiologias (ARIGBEDE, BABATOPE, BAMIDELE, 2012; IGARI K. *et al.* 2014). De fato, os estudos aqui selecionados também encontraram elevação sérica (BAZYAR *et al.*, 2018; ABDOLSAMADI *et al.*, 2014; BERTL *et al.*, 2013) ou na saliva (MONTERO *et al.*, 2017; SHARKAWY *et al.*, 2018) destes mediadores. Assim, interessantemente, alguns estudos pré-clínicos e clínicos associaram a avaliação da inflamação periodontal àquela em nível sérico, em casos de diabetes mellitus (ABDOLSAMADI *et al.*, 2014; MONTERO *et al.*, 2017; BAZYAR *et al.*, 2018; YUCE *et al.*, 2016) e em casos de periodontite e obesidade (VIRTO *et al.*, 2018; VIRTO *et al.*, 2018).

Bazyar e colaboradores (2018) realizaram um estudo onde os pacientes foram avaliados sistematicamente quanto aos níveis séricos de MEL, de TNF- $\alpha$ , IL-6 e de proteína hs-C reativa (hs-CRP) antes e após a TPNC, os resultados mostraram maiores reduções dos níveis de IL-6 e hs-PCR, assim como também na PS da bolsa e no NIC nos pacientes que receberam administração sistêmica de MEL durante o tratamento, quando comparados ao grupo placebo. A TPNC se mostrou eficaz nos dois grupos experimentais. Corroborando tais achados, Montero e colaboradores (2017) realizaram um estudo com um grupo de pacientes com Diabetes Mellitus tipo I e II e periodontite. Todos os pacientes foram instruídos a aplicar um creme orabase à noite, após higiene bucal e antes de dormir, contendo placebo ou MEL. A aplicação tópica de MEL, embora não tenha sido instituído

TPNC, reduziu a PS e o SS, assim como os níveis creviculares de IL-1 $\beta$ , IL-6 e PGE2, nos pacientes com periodontite e diabetes.

De fato, Abdolsamadi e colaboradores (2014) previamente demonstraram que os níveis de MEL em pacientes com periodontite ou diabetes são estatisticamente inferiores, quando comparados aos pacientes sistemicamente saudáveis e sem periodontite sugerindo-se que há uma correlação inversamente proporcional entre os níveis salivares de MEL e a evolução inflamatória do diabetes e de doenças periodontais. Esse resultado, em adição aos anteriormente demonstrados, torna-se interessante por demonstrar que, em casos de inflamações sistêmicas elevadas, níveis de MEL estão reduzidos. Considerando que um dos usos mais populares da administração de MEL é o tratamento da insônia, conseqüentemente, esta informação sugere que, nestes pacientes, existe possibilidade de altas concentrações séricas de mediadores inflamatórios e que o efeito da MEL em reverter este problema decorre, pelo menos em parte, de sua capacidade anti-inflamatória e antioxidante, o que torna a MEL ainda mais interessante do ponto de vista de TPNC. Além disso, a literatura tem indicado que pacientes com periodontite apresentam maiores probabilidades de terem problemas com insônia (TSUCHIYA. *et al.*, 2015; SINGLA *et al.*, 2016). Corroborando tais achados, Sharkawy e colaboradores (2018), por meio de estudo com pacientes que apresentavam insônia primária e periodontite, demonstraram que os níveis salivares de TNF- $\alpha$  e os níveis da escala de Atenas foram menores no grupo que recebeu a TPNC em associação à MEL em comparação ao grupo placebo.

Os resultados clínicos, na realidade, são interessantes quando são associados aos estudos em animais, os quais se tornam importantes por possibilitarem a avaliação direta em tecidos ósseos e gengivais. Assim, os estudos pré-clínicos constituíram-se de metodologias de periodontite induzida por bactérias (GULLE *et al.*, 2014; VIRTO *et al.*, 2018) ou por ligadura (KARA *et al.*, (2012); ARABACI *et al.*, 2015; YUCE *et al.*, 2016; KÖSE *et al.*, 2016; RENN *et al.*, 2018). Após a eutanásia em diferentes tempos experimentais, o tecido gengival, o osso alveolar e o sangue dos animais foram removidos para suas análises.

Yuce e colaboradores (2016) realizaram um estudo in vivo com ratos Wistar, onde o diabetes mellitus foi induzido por injeção intraperitoneal de dose única de estreptozotocina (STZ) (60 mg/kg) e a periodontite foi induzida por ligadura. Os animais que receberam a MEL por meio de uma injeção intraperitoneal de 10 mg/kg, por 4 semanas, tiveram uma diminuição na perda óssea alveolar, assim como também no

número de osteoclastos, reduzindo as imunomarcações para fosfatase ácida resistente a tartarato (TRAP), considerado um marcado para osteoclastos (KIM *et al.* 2017), apesar de não ter sido observada redução significativa nos níveis de Óxido nítrico sintase (iNOS), IL-1 $\beta$  ou e Proteína X associada a bcl-2 (BAX).

Apesar desse resultado, Köse e colaboradores (2016) realizaram um estudo *in vivo* com ratos Sprague Dawley, onde constataram que os animais que foram tratados com uma dose diária intraperitoneal de 10 mg/kg de MEL apresentaram redução significativa dos parâmetros de estresse oxidativo avaliados e os níveis séricos de IL-1 $\beta$  e de telopeptídeo C terminal do colágeno tipo I (CTX), além menor degeneração de colágeno, inflamatória infiltração celular e reabsorção óssea nas análises histológicas, menor expressão de RANKL na imunohistoquímica e menor destruição óssea alveolar observada na radiografia dos espécimes. Kara e colaboradores (2012) através de estudo *in vivo* com ratos Wistar observaram histologicamente que a dose diária de 10mg/kg de MEL foi eficaz na redução do infiltrado leucocitário, do estresse oxidativo e da reabsorção óssea alveolar nos espécimes de animais tratados com MEL, embora não tenham sido observadas alterações significantes nos níveis de estresse oxidativo 8-hidroxi-20-deoxiguanosanos (8-OHdG) e de citocinas inflamatórias avaliados, houve uma tendência à redução com a administração de MEL. Arabaci e colaboradores (2015) também corroboraram ao finalizarem seu estudo, a dose diária única de 10 mg/kg de MEL administrada reduziu os danos de reabsorção óssea alveolar e se mostrou eficaz na cicatrização periodontal, além de ter reduzido os níveis séricos de CTX e aumentado os níveis de fosfatase alcalina óssea (b-ALP). A expressão de RANKL e a atividade de mieloperoxidase (MPO) também foram significativamente reduzidas.

Em sequência, Renn e colaboradores (2018) ao finalizarem seu estudo destacaram que altos índices de RANKL/OPG, atividade TLR4/MyD88 e citocinas pró-inflamatórias foram detectados após a indução da periodontite e que os animais que receberam uma dose de 100mg de MEL tiveram seus índices quase normalizados após o tratamento, quando comparados com os animais que receberam doses de 10 ou 50mg de MEL. Gulle e colaboradores (2014) comprovaram os efeitos protetores da MEL quando administraram 50mg/kg em ratos *Wistar*. A periodontite induzida por LPS causou aumento dos índices de aspartato aminotransferase (AST), Alanina Transaminase (ALT) e nitrogênio da uréia no sangue (BUN). Os animais tratados com a dose diária de MEL mostraram redução nesses índices. Alterações patológicas, como migração apical do

epitélio juncional, extensão de vasos sanguíneos e infiltrado inflamatório foram visualizadas em hemiarçadas do grupo periodontite, porém não nos grupos controle e tratado com MEL. Tais resultados, em associação, podem sugerir um efeito protetor ósseo da MEL provavelmente aliado ao seu efeito anti-inflamatório e antioxidante, considerando a íntima relação entre os sistemas imune e ósseo.

De fato, a presença de TNF- $\alpha$  no local do defeito ósseo contribui para a osteoclastogênese de forma indireta, atuando nos linfócitos T, linfócitos B e células endoteliais, induzindo a produção e liberação do ativador de necrose-kB ligante (RANKL) por tais células (NOH *et al.*, 2013). RANKL é produzido pelos osteoblastos, tanto em sua forma solúvel quanto na de membrana. Seu receptor RANK é expresso por células pré-osteoclásticas. A interação gerada entre RANK-RANKL induz a osteoclastogênese, o que leva a perda óssea. OPG também é produzida pelos osteoblastos, atua como receptor solúvel para RANKL, atua inibindo o processo de diferenciação dos pré-osteoclastos. Assim, OPG através da ligação com RANKL, inibe a ligação RANK-RANKL, prevenindo a ativação de RANK e a osteoclastogênese, resultando na inibição da reabsorção óssea. (WEITZMANN, 2013). Estudos com pacientes diabéticos revelaram que RANKL/OPG e TNF- $\alpha$  estavam com altas taxas em indivíduos com a glicemia não controlada, o que por sua vez, levou ao aumento de doenças periodontais. (SANTOS *et al.*, 2010; BASTOS *et al.*, 2012).

A TNF- $\alpha$  é um potente regulador interno do também do tecido adiposo, atuando de forma autócrina e parácrina, influencia vários processos intracelulares, incluindo a apoptose, em pacientes obesos, por exemplo, o nível circulante de muitas citocinas e proteínas de fase aguda associadas à inflamação apresentam-se elevados, dentre todas as adipocinas relacionadas com processos inflamatórios (ELLULU *et al.*, 2017). Desta forma, normalmente pacientes obesos, em decorrência de altas concentrações séricas de IL-6 e TNF- $\alpha$ , apresentam maior predisposição à destruição dos tecidos periodontais.

Nesse contexto, vale salientar o estudo de Virto e colaboradores (2018), os quais realizaram um estudo *in vivo* onde induziram a periodontite pela combinação de *Porphyromona gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum* e a obesidade pela alimentação rica em gordura. Os parâmetros periodontais considerados no dia inicial do tratamento e da eutanásia foram o ISG, IP, PS e SS. Sistemicamente, os animais foram avaliados quanto aos níveis séricos de osteocalcina (CO), osteopontina (OPN), leptina, insulina, inibidor do ativador do plasminogênio (PAI), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e E-

selectina, bem como de citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e proteína quimioatraente de monócito (MCP -1). A TPNC se mostrou efetivo tanto em animais obesos quanto em animais não obesos, no entanto o uso da MEL reduziu significativamente o SS, os níveis de IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e MCP-1 no tecido gengival e no plasma, bem como melhorou o reparo ósseo avaliado por microCT e teve um efeito positivo para os marcadores ósseos avaliados, bem como controlou os marcadores associados ao metabolismo de carboidratos e de lipídeos. Tais resultados tendem a ter diferenças ainda mais proeminentes para animais obesos.

Adicionalmente, em um outro estudo Virto *et al.* (2018) indicaram que a concentração de MEL mudou em todos os grupos avaliados, mostrando menores índices nos animais obesos e índices ainda mais baixos nos animais obesos e com periodontite induzida.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nessa pesquisa levam a concluir que os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios da MEL foram capazes de reduzir o estresse oxidativo, sugerindo que os mesmos podem melhorar a função defensiva do processo inflamatório periodontal e modular, contribuindo para a cicatrização periodontal e a diminuição da atividade osteoclástica. Além disso, observou-se, também, um efeito positivo na resposta metabólica quanto à coexistência com outras doenças inflamatórias como a obesidade e a diabetes. Portanto, a MEL pode ser potencialmente valiosa no tratamento de doenças periodontais, bem como outras doenças caracterizadas por inflamação crônica.

## REFERÊNCIAS

1. ABDOLSAMADI, H. *et al.* Reduction of Melatonin Level in Patients with Type II Diabetes and Periodontal Diseases. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**. Tabriz, v. 8, n. 3, p.160-165, Sep, 2014.
2. ARABACI, T. *et al.* Therapeutic Effects of Melatonin on Alveolar Bone Resorption After Experimental Periodontitis in Rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. **Journal of Periodontology**. Chicago, v.86, n. 7, p.874-881, Jul, 2015.
3. ARENDT, J. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. **Journal of Reproduction and Fertility**. Colchester, UK, v. 3, n. 1, p. 13–22, Jan, 1998.
4. ARIGBEDE, A. O.; BABATOPE B. O.; BAMIDELE M. K. Periodontitis and systemic diseases: A literature review. **Journal of Indian Society of Periodontology**. Mumbai, v. 16, n. 4, p. 487–491, Oct-Dec, 2012.
5. ARWEILER, N. B. *et al.* Six-month results following treatment of aggressive periodontitis with antimicrobial photodynamic therapy or amoxicillin and metronidazole. **Clinical Oral Investigations**. Berlin, v. 18, n.9, p. 2129-2135, Feb 2014.
6. BASTOS, A. S. *et al.* Lipid peroxidation is associated with severity of periodontal disease and local inflammatory markers in patients with type 2 diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. Springfield, v. 97, n. 8, p. 1353-62, Aug, 2012.
7. BAZYAR, H. *et al.* The Effects of Melatonin Supplementation in Adjunct with Non-Surgical Periodontal Therapy on Periodontal Status, Serum Melatonin and Inflammatory Markers in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Chronic Periodontitis: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. **Inflammopharmacology**. Switzerland, v. 27, n. 1, p. 67-76, Oct 2016.
8. BERTL, K. *et al.* Non-surgical Periodontal Therapy Influences Salivary Melatonin Levels. **Clinical Oral Investigations**. Berlin, v. 17, n. 4, p. 1219-1225, May, 2013.
9. CEKICI *et al.* Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal
10. GOMES, S. C *et al.*, Supragingival treatment as an aid to reduce subgingival needs: a 450-day investigation. **Brazilian Oral Research**. São Paulo, v. 28, n. 1, Jan 2014.
11. GULLE, K. *et al.* Multi-organ Injuries Caused by Lipopolysaccharide-Induced Periodontal Inflammation in Rats: Role of Melatonin. **Journal of Periodontal Research**. Copenhagen, v. 49, n.6, p. 736-741, Dec 2014.
12. HABTEMARIAM, S. Methyl-3-O-methyl gallate and gallic acid from the leaves of *Peltiphyllum Peltatum*: isolation and comparative antioxidant, prooxidant, and

- cytotoxic effects in neuronal cells. **Journal of Medicinal Food**. Larchmont, v. 14, n. 11, p. 1412-1418, Nov 2011.
13. HAJISHENGALLIS, T. *et al.* Role of complement in host-microbe homeostasis of the periodontium. **Seminars in Immunology**. Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 65-72, Feb, 2013.
  14. HARDELAND, R. Melatonin and inflammation – story of a double-edged blade. **Journal of Pineal Research**. New York, v. 65, n. 4. September 2018
  15. IGARI, K. *et al.* Association between periodontitis and the development of systemic diseases. **Oral Biology and Dentistry**. India, v. 2, n. 4, Jan, 2014.
  16. JEPSEN K & JEPSEN S. Antibiotics/Antimicrobials: Systemic and local administration in the therapy of mild to moderately advanced periodontitis. **Periodontology 2000**. Copenhagen, v. 71, n. 1, p. 82–112, Jun 2016.
  17. KAYAL, R. A. The Role of Osteoimmunology in Periodontal Disease. **BioMed research international**. New York, v. 2013, n. 639368, p. 1-12, Sep 2013
  18. KARA, A. *et al.* Immune Modulatory and Antioxidant Effects of Melatonin in Experimental Periodontitis in Rats. **Free Radical Biology & Medicine**. New York, v. 55, n. 21, p. 6, Feb, 2013.
  19. KIM, H. *et al.* Suppression of Osteoclast genesis by Melatonin: A Melatonin Receptor-Independent Action. **International journal of molecular sciences**. Basel, v. 18, n. 6, p.1142, Jun, 2017.
  20. KÖSE, O. *et al.* Melatonin Prevents Radiation-Induced Oxidative Stress and Periodontal Tissue Breakdown in Irradiated Rats with Experimental Periodontitis. **Journal of Periodontal Research**. Copenhagen, v. 52, n. 3, p. 438-446, Jun, 2017.
  21. MARIA, S.; WITT-ENDERBY, P. A. Melatonin effects on bone: potential use for the prevention and treatment for osteopenia, osteoporosis, and periodontal disease and for use in bone-grafting procedures. **Journal of Pineal Research**. New York, v. 56, n. 2, p. 115-125, Mar, 2014.
  22. MAURIZ, J. L. *et al.* A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. **Journal of pineal research**. New York, v. 54, n. 1, p. 1-14, Jan 2013.
  23. MEDZHITOV, R. Toll-like receptors and innate immunity. **Nature Reviews Immunology**. London, v. 1, n. 2, p. 135-45, Nov, 2001.
  24. MONTERO, J. *et al.* Changes in crevicular cytokines after application of melatonin in patients with periodontal disease. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**. Spain, v. 9, n. 9, p. 1081-1087, Sep, 2017.
  25. NOH, M. K. *et al.* Assessment of IL-6, IL-8 and TNF-alpha levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. **Experimental and therapeutic medicine**. Greece v. 6, n. 3, p. 847-851, Sep, 2013.

26. PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. **Laboratory Investigation: A Journal of Technical Methods and Pathology**. Baltimore, v. 34, n. 3, p. 235-249, Mar, 1976.
27. PRIYANKA, N. *et al.* Clinical and microbiological efficacy of 3% satranidazole gel as a local drug delivery system in the treatment of chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial. **Contemporary Clinical Dentistry**. India, v. 6, n. 3, p. 364-370, Jul-Sep, 2015.
28. RAFIEI, M. *et al.* Study of *Porphyromonas gingivalis* in periodontal diseases: A systematic review and meta-analysis. **Medical Journal of the Islamic Republic of Iran**. Iran, v. 12, p. 31-62, Sep 2017.
29. RENN, T. Y. *et al.* Prophylactic Supplement with Melatonin Successfully Suppresses the Pathogenesis of Periodontitis Through Normalizing RANKL/OPG Ratio and Depressing the TLR4/MyD88 Signaling Pathway. **Journal of Pineal Research**. New York, v. 64, n. 3, Apr, 2018.
30. SANTOS, V. R, *et al.* Receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand/osteoprotegerin ratio in sites of chronic periodontitis of subjects with poorly and well-controlled type 2 diabetes. **Journal of Periodontology**. Chicago, v.81, n. 10, p. 1455-65, Oct, 2010.
31. SHARKAWY, H. El. *et al.*, Is Dietary Melatonin Supplementation a Viable Adjunctive Therapy for Chronic periodontitis? A Randomized Controlled Clinical Trial. **Journal of Periodontal Research**. Copenhagen, v. 54, n. 2, p. 190-197, Oct, 2018.
32. SILVA *et al.*, Host response mechanisms in periodontal diseases. **Journal of Applied Oral Science**. Bauru, v. 23, n. 3, May-Jun, 2015.
33. SINGLA, N. *et al.* The impact of lifestyles on the periodontal health of adults in Udupi district: A cross sectional study. **Journal of Indian Society of Periodontology**. India, v. 20, n. 3, p. 330-335, May-Jun, 2016.
34. SLOTS, J. Periodontology: past, present, perspectives. **Periodontology 2000**. Copenhagen, v. 62, n. 1, p. 7-19, Jun, 2013.
35. TINTO *et al.*, Melatonin as Host Modulating Agent Supporting Nonsurgical Periodontal Therapy in Patients Affected by Untreated Severe Periodontitis: A Preliminary Randomized, Triple-Blind, Placebo-Controlled Study. **Journal of Periodontal Research**. Copenhagen, v. 55, n. 1, p.61-67, Aug, 2019.
36. TSUCHIYA, M. *et al.* Periodontal Disease Is Associated with Insomnia among Victims of the Great East Japan Earthquake: A Panel Study Initiated Three Months after the Disaster. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**. Sendai, v. 237, n. 2, p. 83–90, Oct, 2015.
37. TORRUNGRUANG, K. *et al.* *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Treponema denticola* / *Prevotella intermedia* Co-Infection Are Associated with Severe Periodontitis in a Thai Population. **PLoS One**. San Francisco, V. 10, n. 8, Aug, 2015.

38. VIRTO, L. *et al.*, Melatonin as adjunctive therapy in the treatment of periodontitis associated with obesity. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 45, n. 11, p. 1336-1346, Sep, 2018.
39. VIRTO, L. *et al.* Melatonin Expression in Periodontitis and Obesity: An Experimental In-Vivo Investigation. **Journal of Periodontal Research**. Copenhagen, v. 53, n. 5, p. 825-831, Oct, 2018.
40. VLOT *et al.* Clinical utility of bone markers in various diseases. **Metabolic Bone Disease & Related Research**. Elmsford, NY, v. 18, n. 114, p. 215-225, 2018.
41. WEITZMANN, M. N. The Role of Inflammatory Cytokines, the RANKL/OPG Axis, and the Immunoskeletal Interface in Physiological Bone Turnover and **Osteoporosis**. **Scientifica**. Cairo, v. 2013, Article ID 125705, 29 page, Feb, 2013.
42. YUCE, H. B. *et al.* The Effect of Melatonin on Bone Loss, Diabetic Control, and Apoptosis in Rats with Diabetes with Ligature-Induced Periodontitis. **Journal of Periodontology**. Chicago, v. 87, n. 4, p. 35-43, Apr, 2016.
43. ZHU *et al.*; Effects of Melatonin on Intestinal Microbiota and Oxidative Stress in Colitis Mice. **BioMed Research International**. United States, v. 2018, n. 2607679, p. 6, 2018.