HILANA PAULA CARILLO ARTESE

**Avaliação de marcadores inflamatórios séricos em indivíduos com diabetes
mellitus tipo 2 após tratamento periodontal intensivo não-cirúrgico:
estudo clínico randomizado**

São Paulo

2014

HILANA PAULA CARILLO ARTESE

**Avaliação de marcadores inflamatórios séricos em indivíduos com diabetes
mellitus tipo 2 após tratamento periodontal intensivo não-cirúrgico:
estudo clínico randomizado**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Titular Giuseppe
Alexandre Romito

São Paulo

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Artese, Hilana Paula Carillo.

Avaliação de marcadores inflamatórios séricos em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 após tratamento periodontal intensivo não-cirúrgico: estudo clínico randomizado / Hilana Paula Carillo Artese ; orientador Giuseppe Alexandre Romito. -- São Paulo, 2014.

56 p. : fig., tab., graf. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Periodontia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida.

1. Tratamento periodontal. 2. Periodontite crônica. 3. Diabetes Mellitus. 4. Citocinas. I. Romito, Giuseppe Alexandre. II. Título.

Artese HPC. Avaliação de marcadores inflamatórios séricos em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 após tratamento periodontal intensivo não-cirúrgico: estudo clínico randomizado. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2014

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Cada etapa que concluimos é um capítulo da história de nossas vidas que escrevemos. Este foi mais um. A conclusão de um curso de doutorado envolve o apoio, compreensão e companheirismo de pessoas que nos cercam. Dedico este trabalho ao meu marido Rafael. Agradeço por estar ao meu lado durante este longo percurso. Você além de fazer parte deste capítulo, ajudou-me a escrevê-lo.

Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por guiar meus passos e colocar ao meu redor, pessoas capazes de ajudar a ultrapassar os desafios deste percurso.

Agradeço aos pacientes que participaram deste trabalho pela participação, colaboração e por darem exemplos de vida, mostrando que para sermos felizes precisamos apenas de saúde.

Aos meus pais Arivaldo e Emília, responsáveis pela minha existência, formação e educação. O ser humano que sou é fruto de seus exemplos. Obrigado por estarem ao meu lado, em todas as decisões, sempre com apoio e incentivo.

Aos meus padrinhos Alderico e Heliete, que também sempre estiveram ao meu lado e serviram como brilhantes exemplos de profissionais e seres humanos. Vocês foram responsáveis pela escolha da minha profissão.

A minha prima Flávia, que me acompanha desde a graduação (quando foi minha professora), me incentivou a fazer periodontia e seguir carreira acadêmica. Seus conselhos deram certo!

Ao Prof. Eduardo Feres, por ter me conduzido à FOUSP.

Ao meu orientador, Prof. Giuseppe, pela oportunidade em realizar este trabalho. Agradeço a confiança e a possibilidade de estar ao seu lado em momentos importantes da sua vida profissional. Seu exemplo foi de grande valia para meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Prof. Sérgio Dib, pela oportunidade em desenvolver este trabalho junto ao setor de endocrinologia da UNIFESP.

A Professora Marcia Mayer, pela confiança em “abrir as portas de seu laboratório” para o nosso grupo e pelos seus ensinamentos.

A querida amiga Adriana Foz, quem me “acolheu” na chegada a esta instituição e muito contribuiu para o desenvolvimento deste projeto. Sempre pronta a ajudar “o que der e vier”. Obrigada por tudo!

Ao grupo de trabalho. Inicialmente formado por colegas e hoje verdadeiros amigos. Sem esta equipe tenho certeza que não conseguiríamos concluir este projeto, assim como os outros que fizemos e os que estão por vir. Meus agradecimentos especiais para vocês: Anna Carolina, Giovane Hisse, Mariana Rabelo e Priscila Longo. Também agradeço a Luana e Isabela, pela disponibilidade e colaboração durante a trajetória deste percurso. Vocês foram muito importantes!

Ao João, responsável pelas coletas de sangue. Muito obrigada pela ajuda!

Aos amigos e contemporâneos de turma Ana Paula Sassá, Daniela Takahashi, Gislene Inoue, Samuel Júnior e Livia Tolentino pelos momentos de trabalho, estudo, descontração e boas risadas.

A todos os professores da Disciplina de Periodontia da FOUSP pelos ensinamentos.

A Márcia e Marília, que fazem parte da equipe administrativa da Disciplina de Periodontia, pelo auxílio e pronto atendimento quanto às exigências burocráticas.

Aos funcionários da biblioteca da FOUSP pela colaboração neste trabalho

A FAPESP, pelo Auxílio à Pesquisa (2011/06982-4).

A CAPES, pela bolsa de estudos no programa Demanda Social.

Abotinha

"Abotinha representa a caminhada da vida. Subi e desci. Andei depressa e devagar. Cansei e descansei. Entristeci e me alegrei. E assim sempre caminhei. Hoje estou gasta e cheia de marcas mas com certeza, valeu a pena."

Ditinho Joana, escultor brasileiro

RESUMO

Artese HPC. Avaliação de marcadores inflamatórios séricos em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 após tratamento periodontal intensivo não-cirúrgico: estudo clínico randomizado [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Corrigida.

O objetivo deste trabalho foi comparar os efeitos sorológicos e clínicos de dois protocolos de terapias periodontais em indivíduos com diabetes tipo 2 (DMT2) e periodontite crônica. Foram analisados 36 pacientes, randomizados em dois grupos: um grupo recebeu terapia intensiva de raspagem e alisamento radicular (INT; n=18) e outro recebeu apenas raspagem supragengival (SUP; n=18). Os grupos foram avaliados quanto aos parâmetros clínicos periodontais e marcadores inflamatórios séricos, antes e após 6 meses do tratamento periodontal. O exame clínico periodontal avaliou: placa visível (IP), índice gengival (IG), supuração (SUPUR), profundidade clínica de sondagem (PCS) e nível clínico de inserção (NCI). Amostras sanguíneas foram obtidas para análise de marcadores inflamatórios e hemoglobina glicada (HbA1c). Os marcadores de inflamação avaliados foram: interleucina (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), interferon- γ (IFN- γ), proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1), proteína inflamatória de macrófago-1 β (MIP-1 β) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), através do imunoensaio multiplex (Bioplex). Ambas as terapias resultaram na melhora de quase todos os parâmetros clínicos periodontais ($p < 0,05$), com exceção do NCI ($p = 0,09$) no grupo SUP. Não houve diferença significativa para os níveis de IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, MIP-1 β e TNF- α ($p > 0,05$), após tratamento, em ambas as terapias. Houve redução significativa de IL-6 ($p = 0,01$), IL-12 ($p = 0,04$) e MCP-1 ($p = 0,02$) no grupo INT e de GCS-F nos grupos SUP ($p = 0,04$) e INT ($p = 0,01$). Os níveis de IL-2, IL-7, IL-8, IL-17, GM-CSF e IFN- γ não foram detectados. A terapia INT tem um efeito benéfico na redução dos níveis séricos de IL-6, IL-12 e MCP-1, na redução de PCS em sítios profundos e no ganho de inserção quando comparado à terapia supragengival em um período de 6 meses.

Palavras-chave: Terapia periodontal. Periodontite crônica. Diabetes *mellitus* tipo 2. Citocinas. Marcadores inflamatórios séricos.

ABSTRACT

Artese, HPC. Evaluation of serum inflammatory markers in individuals with type 2 diabetes mellitus after intensive non-surgical periodontal therapy: a randomized clinical trial. effects [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Corrigida.

The objective of this study was to compare the serological and clinical effects of two periodontal therapies in individuals with type 2 diabetes (T2DM) and chronic periodontitis. 36 patients were analyzed, randomized into two groups: one group received intensive treatment of scaling and root planing (INT, n=18) and another received only supragingival scaling (SUP, n=18). The groups were evaluated for periodontal parameters and serum inflammatory markers before and after 6 months of periodontal treatment. The periodontal parameters assessed were: visible plaque (PI), gingival index (GI), suppuration (SUP), probing pocket depth (PPD) and clinical attachment level (CAL). Blood samples were obtained for analysis of inflammatory markers and glycated hemoglobin (HbA1c). The inflammatory markers evaluated were: interleukin (IL)- 1 β , IL- 2, IL -4, IL -5, IL -6, IL -7 , IL-8 , IL-10 , IL-12 , IL-13 , IL -17, granulocyte colony-stimulated factor (G-CSF), colony stimulating factor granulocyte-macrophage (GM-CSF), interferon - γ (IFN - γ), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) , macrophage inflammatory protein-1 β (MIP-1 β) and tumor necrosis factor α (TNF- α) through a multiplex immunoassay (Bioplex). Both therapies resulted in improvement of almost all periodontal clinical parameters ($p < 0.05$), with the exception of the NCI in SUP group. There was no significant difference for (IL)- 1 β , IL- 4, IL -5, IL-10 , IL-13 , MIP- 1 β and TNF- α after treatment for both therapies ($p > 0.05$). A significant reduction was observed in IL-6 ($p = 0.01$), IL-12 ($p = 0.04$) and MCP-1 ($p = 0.02$) levels for INT group and in GCS- F levels for SUP ($p = 0.04$) and INT ($p = 0.01$) groups. The levels of IL-2, IL -7, IL-8 , IL-17, GM- CSF and IFN- γ were not detectable. The INT therapy has a beneficial effect in reducing serum levels of IL-6, IL-12 and MCP-1, in reducing PPD of deep sites and in attachment gain when compared to SUP therapy considering a period of 6 months.

Keywords: Periodontal therapy. Chronic periodontitis. Diabetes mellitus type 2. Cytokines. Serum inflammatory markers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 5.1 - Fluxograma do estudo	28
Figura 5.2 - Distribuição dos marcadores inflamatórios séricos antes e após terapia periodontal para os grupos SUP e INT.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Características demográficas, hemoglobina glicada (HbA1c), índice de massa corpórea (IMC) e tempo de DMT2 nos grupos SUP e INT no início do estudo	29
Tabela 5.2 - Mediana e percentil (25% e 75%) dos parâmetros clínicos periodontais no início e 6 meses após o tratamento periodontal nos grupos SUP e INT	30
Tabela 5.3 - Redução média nas medianas (percentis) de PCS e NCI, entre o início e 6 meses após o tratamento periodontal nos grupos SUP e INT	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SUP	Terapia periodontal supragengival (raspagem supragengival)
INT	Terapia periodontal intensiva (raspagem supra e subgengival)
DMT1	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 1
DMT2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
HbA1c	Hemoglobina glicada
IMC	Índice de massa corpórea
MM	Milímetro
ML	Mililitro
NG	Nanograma
MG	Miligrama
µL	Microlitro
PCS	Profundidade clínica de sondagem
NCI	Nível clínico de inserção
SS	Sangramento à sondagem
IP	Índice de placa
IG	Índice gengival
SUPUR	Supuração
IL	Interleucina
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
MCP-1	Proteína quimiotática de monócito 1
MIP-1β	Proteína inflamatória de macrófago 1 beta
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos
G-CSF	Fator estimulador de colônias granulocitárias
AGE(s)	<i>Advanced glycation end products</i> (produtos finais de glicação avançada)
ELISA	<i>Enzyme linked immunoabsorbent assay</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
3 PROPOSIÇÃO	18
4 PACIENTES E MÉTODOS	19
5 RESULTADOS.....	27
6 DISCUSSÃO	36
7 CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS.....	41
ANEXOS	51

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* (DM) é um grupo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia, resultado da alteração na secreção e/ou ação da insulina (ADA, 2012). De acordo com a etiologia, o DM pode ser classificado como tipo 1 ou tipo 2. O DM tipo 1 (DMT1) compreende de 5 a 10% dos casos, é caracterizado pela destruição das células beta pancreáticas e tem como consequência a deficiência de insulina. O DM do tipo 2 (DMT2), compreende de 90 a 95% dos casos, é caracterizado por defeitos na ação e secreção de insulina. Grande parte dos pacientes com essa forma de DM apresenta sobrepeso ou obesidade e, geralmente, é diagnosticada após os 40 anos de idade (WHO, 2006). Diversos fatores contribuem para o início e desenvolvimento do diabetes, tais como características hereditárias, dieta, estilo de vida, idade e obesidade (WHO, 2006; Bergman, 2013). Algumas complicações micro e macrovasculares podem acontecer em consequência da hiperglicemia crônica, como coronariopatias, nefropatias, neuropatias e retinopatias (Rosenson et al., 2011). Estas complicações são cada vez mais frequentes e representam um importante problema de saúde pública (CDC, 2011). O controle metabólico e glicêmico é um fator determinante na patogênese e progressão das complicações do DM (King, 2008), assim, recentes evidências sugerem novas abordagens para o tratamento do diabetes através do controle dos processos inflamatórios e infecciosos (Galloway; Chattopadhyay, 2013; Sánchez-Zamora; Rodriguez-Sosa, 2014).

A periodontite crônica é uma doença inflamatória e infecciosa, caracterizada pela perda dos tecidos que suportam os dentes (Armitage, 2003; Pihlstrom et al., 2005). O biofilme dental é o fator etiológico responsável pela produção local de biomarcadores inflamatórios, como as citocinas (Van Dyke; Serhan, 2003). As concentrações locais e séricas de citocinas podem estar relacionadas (Kebschull et al., 2010; Lalla, Papapanou, 2011). Dentro deste contexto, o tratamento periodontal pode estar associado à redução da inflamação/infecção local e sistêmica (D'aiuto et al., 2004, 2013; O'Connell et al., 2008), uma vez que tem como objetivo alterar/remover o biofilme dental (Dentino et al., 2013).

O DMT2 é um fator de risco para a periodontite (Taylor, 2001), e esta é considerada como a sexta complicação do diabetes (Løe, 1993). A relação entre

essas doenças tem sido muito discutida e há uma suscetibilidade ao desenvolvimento da periodontite em indivíduos com DMT2, assim como a periodontite, quando não tratada, pode alterar o controle metabólico do diabetes (Taylor; Borgnakke, 2008). A periodontite se desenvolve por um desequilíbrio entre o desafio bacteriano e a resposta imunológica do hospedeiro (Armitage, 2013), o que gera inflamação, destruição do tecido conjuntivo e remodelação do tecido ósseo (Slots, 2013). Alguns mediadores inflamatórios, liberados neste processo, podem ser detectados em altos níveis na saliva e no fluido crevicular gengival (Javed et al., 2012).

Indivíduos com DMT2 possuem uma atividade modificada de neutrófilos, devido à diminuição na quimiotaxia, aderência e fagocitose, o que diminui a capacidade imunológica e resposta inflamatória (Guarda et al., 2009). Essa diferente atividade de neutrófilos é causada, em parte, pela hiperglicemia e acúmulo de AGEs (*advanced glycation end-products*), o que provoca uma contínua ativação dos polimorfonucleares (resposta hiper-inflamatória), exacerbando a produção de citocinas (Mealey; Oates, 2006). Assim, a periodontite pode contribuir para o aumento da inflamação sistêmica do diabetes (Demmer et al., 2008).

Algumas revisões sistemáticas, já abordaram os efeitos benéficos do tratamento periodontal sobre o controle glicêmico no diabetes (Janket et al., 2005; Teeuw et al., 2010; Simpson et al., 2010; Engebretson; Kocher, 2013). No entanto, o maior estudo clínico, já publicado até hoje, não encontrou tal associação, assim como não avaliou o efeito do tratamento periodontal em marcadores inflamatórios sistêmicos (Engebretson et al., 2013). Tal efeito já foi previamente descrito na literatura (O'Connell et al., 2008; Kardesler et al., 2010; Sun et al., 2011; Auyeung et al., 2012, Lin et al., 2012), mas ainda permanece contraditório, possivelmente, pelos diferentes protocolos de tratamento e biomarcadores inflamatórios avaliados. Este estudo tem como diferencial a presença de um grupo controle, avaliação de maior número de biomarcadores inflamatórios e maior tempo de acompanhamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A periodontite é uma doença inflamatória e infecciosa, induzida por um biofilme bacteriano, que pode levar à inflamação gengival e destruição dos tecidos periodontais (Kinane; Bartold, 2007). Embora a ação bacteriana seja o fator determinante para o início da doença, a susceptibilidade e progressão da periodontite são determinadas pela resposta imunoinflamatória do indivíduo (Van Dyke; Serhan, 2003). Diversos fatores podem modificar a resposta imunoinflamatória frente à agressão de patógenos periodontais e, um deles, é o DM (Choi et al., 2011). Esta relação, entre o DM e a periodontite, vem sendo estudada nas últimas décadas (Gurav, 2013).

Aproximadamente, o DM afeta 346 milhões de indivíduos no mundo. Em 2030, estima-se que essa será a sétima causa de morte (WHO, 2006). No Brasil, apesar da falta de dados epidemiológicos atuais, o estudo de Wild et al. (2004) fez uma previsão de, aproximadamente, 11,3 milhões de indivíduos afetados com DM para o ano de 2030. Cabe ressaltar, que a maioria dos casos diagnosticados como DM, 90% são do tipo 2 (Wild et al., 2004; Mealey; Oates, 2006). Tal crescimento epidemiológico é explicado pelo aumento da expectativa de vida populacional, urbanização, obesidade e sedentarismo (Fernandez-Real; Pickup, 2012).

O DMT2 está relacionado com a resistência periférica à ação da insulina e pode modular a severidade da doença periodontal através de alterações vasculares, disfunção de leucócitos polimorfonucleares, alteração na síntese de colágeno e formação de AGEs. Consequentemente, haverá um aumento na produção de citocinas, resultando em um estado hiperinflamatório (Morita et al., 2012).

Diversos mediadores químicos estão envolvidos na periodontite: inflamação, degradação do tecido conjuntivo e remodelação óssea (Sexton et al., 2011). Existe uma forte associação entre a circulação de mediadores imunoinflamatórios, infecções crônicas e resistência à insulina (Hotamisligil, 2006). As infecções crônicas geram uma inflamação de baixo grau, pois existe uma longa ativação do sistema imune inato (Pickup et al., 1997; Pickup; Crook, 1998). Uma resposta imune inata exacerbada, caracterizada pela liberação de citocinas, é um fator comum entre a periodontite e o DM, representando um efeito sinérgico quando as doenças

coexistem (Nassar et al., 2007). As citocinas são proteínas solúveis reguladoras e mediadoras da imunidade inata e adaptativa, produzidas, principalmente, por linfócitos T e macrófagos (Esser et al., 2014). As quimiocinas ou citocinas quimiotáticas são proteínas envolvidas na migração e ativação de leucócitos, bem como no desenvolvimento de linfócitos T *helper* (Th). As células Th têm origem nas células T+CD4 depois de estimuladas por antígenos. Podem dividir-se em subpopulações Th1, Th2 e Th17, de acordo com as citocinas que produzem (Zhu et al., 2010). A resposta Th1 se caracteriza pela secreção de IFN- γ e IL-12, relacionando-se, principalmente, com a resposta imune inata através da ativação de macrófagos e células *natural Killer*. As células Th2 se relacionam, principalmente, com a resposta imune humoral e tem propriedades regulatórias (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) (Garlet, 2010). A resposta Th2 promove a imunidade humoral através da produção de fatores de crescimento e diferenciação de linfócitos B (Gemmell; Seymour, 2004). A resposta Th17 se caracteriza principalmente pela produção de IL-17, IL-6 e TNF- α , e está associada à inflamação aguda e condições autoimunes (Zielinski et al., 2012).

A imunidade inata do periodonto é mediada por células do epitélio, ligamento periodontal, fibroblastos, osteoblastos e células dendríticas (Hans; Hans, 2011). Durante o processo de desenvolvimento da periodontite, a barreira epitelial é rompida e os fibroblastos, principais células do periodonto, entram em contato direto com os patógenos periodontais, dessa forma, liberando as citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e MIP-1 β (Graves, 1999; Ebersole et al., 2013). Por exemplo, o TNF- α induz a produção de quimiocinas, que fazem quimiotaxia de células de defesa para os sítios infectados (Garlet, 2010) e aumentam a produção de outras citocinas pró-inflamatórias (Graves, 2008). Em geral, essas citocinas têm um caráter pró-inflamatório e estão envolvidas na resposta imune inata, estimulando as moléculas de adesão, metaloproteinases e fatores que se relacionam com a osteoclastogênese (Cekici et al., 2014). Os estudos, que relacionam inflamação crônica e resistência à insulina, demonstram que existe um aumento local (Ribeiro et al., 2011; Duarte et al., 2014) e sérico (Tuttle et al., 2004; Al-Shukaili et al., 2013) de citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IL-8, IL-6, IL-12 e TNF- α em indivíduos com DM2. Portanto, existe um importante papel das duas doenças na manutenção da inflamação local e sistêmica (Ebersole; Capelli, 2000; Preshaw et al., 2012; Ebersole et al., 2013).

3 PROPOSIÇÃO

Comparar os efeitos sorológicos e clínicos de 2 protocolos de terapias periodontais (terapia intensiva e terapia supragengival) em indivíduos com DMT2 e periodontite crônica sobre:

1. Os níveis séricos de marcadores inflamatórios;
2. Os parâmetros clínicos periodontais.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Ensaio clínico randomizado, cego e paralelo.

4.2 Amostra do estudo

A população estudada foi de 36 pacientes, diagnosticados com DMT2 e selecionados na Divisão de Endocrinologia do Departamento de Medicina do Hospital da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Os pacientes selecionados estavam em acompanhamento médico. Todos estavam em uso de medicamentos (metformina ou sulfoniluréia ou metformina + sulfoniluréia ou insulina + sulfoniluréia ou insulina + acarbose) e dieta (acompanhamento ambulatorial com nutricionista). Após seleção na UNIFESP, os indivíduos foram encaminhados para a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) para triagem e tratamento periodontal. A triagem selecionou indivíduos com DMT2 e periodontite crônica. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP (FR 284313/127-2009) (Anexo A) e registrado no *clinicalTrials.gov*, sob número NCT01291875.

4.3 Critérios de inclusão

Indivíduos com mais de 35 anos de idade, diagnosticados com DMT2, com periodontite crônica generalizada ($\geq 30\%$ dos sítios com nível clínico de inserção ≥ 4 mm, profundidade clínica de sondagem ≥ 4 mm e sangramento à sondagem), com presença de, no mínimo, 15 dentes na cavidade oral e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

4.4 Critérios de exclusão

Grávidas e/ou lactantes, fumantes, obesos ($IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$), portadores do vírus HIV ou hepatites (B, C), em uso de aparelhos ortodônticos, doenças sistêmicas não controladas (doenças cardiovasculares, doenças pulmonares, hepáticas ou insuficiência renal), neoplasmas, sob terapia antimicrobiana ou uso de antimicrobianos nos últimos 6 meses, uso de antissépticos orais nos últimos 3 meses, em uso de medicamentos imunossupressores, com necessidade de cobertura antimicrobiana para procedimentos periodontais e indivíduos que tenham sido submetidos a terapia periodontal nos últimos 6 meses.

4.5 Anamnese e exame clínico periodontal

Foram coletados dados da história médica, dados demográficos e hábitos de higiene bucal (Anexo C). Qualquer alteração em relação à medicação para o DMT2 foi descrita no decorrer do estudo. As fichas utilizadas estão nos Anexos D, E e F.

O exame periodontal foi realizado por dois operadores calibrados (Hilana P.C. Artese e Adriana Moura Foz), utilizando-se a sonda periodontal da Universidade da Carolina do Norte (Hu-Friedy®, Chicago, IL, EUA). Foram avaliados seis sítios por dente, em todos os dentes, com exceção dos terceiros molares.

4.5.1 Índice de placa visível (Ainamo; Bay 1975)

Presença (1) ou ausência (0) de placa supragengival visível.

4.5.2 Índice gengival (Ainamo; Bay 1975)

Presença (1) ou ausência (0) de sangramento à sondagem da margem gengival.

4.5.3 Profundidade clínica de sondagem (PCS)

Medida que vai da base da bolsa periodontal à margem gengival, correspondente à profundidade de bolsa (mm).

4.5.4 Nível clínico de inserção (NCI)

Medida que vai da base da bolsa periodontal à junção cimento-esmalte (JCE), corresponde ao nível clínico de inserção (mm).

4.5.6 Sangramento à sondagem (SS)

Presença (1) ou ausência (0) de sangramento à sondagem.

4.6 Calibração

A calibração intra e inter-examinadores foi feita antes do início do estudo, em uma amostra de 10 pacientes para PCS e NCI. O coeficiente de correlação intraclass (ICC) intra-avaliadores e inter-avaliadores obteve uma concordância $> 0,85$.

4.7 Grupos de terapia intensiva (INT) e supragengival (SUP)

Os pacientes (n=36) foram divididos aleatoriamente em dois grupos. A randomização foi feita através de sequência numérica aleatória (Microsoft Excel, v.2010, Redmond, WA, EUA). A alocação foi feita através de inserção da sequência

de números em envelopes opacos e numerados. Um grupo recebeu terapia periodontal intensiva (INT) e outro recebeu terapia periodontal supragengival (SUP), de acordo com D'Aiuto et al. (2005). Todos os participantes receberam orientação de higiene bucal (OHB), previamente, ao estudo. O grupo INT recebeu tratamento periodontal intensivo (raspagem e alisamento radicular - RAR) sob anestesia local (prilocaína 3% com felipressina), no máximo, em duas sessões de até 120 minutos. O grupo SUP recebeu raspagem supragengival em uma sessão, aproximadamente, de 60 minutos. Indivíduos do grupo SUP, que apresentassem sinais de progressão de periodontite (pelo menos um sítio com perda de inserção clínica > que 3 mm), foram excluídos do estudo e encaminhados para a terapia INT. O grupo SUP foi utilizado como controle para comparação com o grupo INT. Foi utilizado aparelho de ultrassom (mini-piezon, EMS®, Nyon, Switzerland) e curetas (Hu-Friedy®, Chicago, IL, EUA) em ambos os grupos. O(s) dente(s) definido(s) como perdido(s) (lesão endo-perio crônica e/ou perda de inserção até ou próximo ao ápice do dente; cárie extensa com impossibilidade de restauração) foi (ram) extraído(s) antes do início do estudo. Mensalmente, os dois grupos receberam orientação de higiene bucal e controle do biofilme supragengival profissional até o término do estudo. Os tratamentos SUP e INT foram realizados por um especialista experiente (Giovane Hisse Gomes).

4.8 Cronograma de procedimentos

4.8.1 Consulta para seleção dos pacientes

- Exame periodontal para seleção dos indivíduos.
- Avaliação das medicações.

4.8.2 Consulta inicial

- Exame periodontal completo (PCS, NCI, SS, IP, IG e SUPUR).
- Avaliação da glicemia (capilar), pressão arterial e IMC.
- Reavaliação das medicações.
- Randomização nos grupos INT e SUP.
- Orientação de higiene oral para os indivíduos de ambos os grupos.

4.8.3 Consulta para tratamento periodontal

- Avaliação da glicemia (capilar).
- Coleta de sangue.
- Tratamento periodontal (INT ou SUP).

4.8.4 Consultas mensais

- Reforço de OHB.
- Controle do biofilme supragengival (INT e SUP).
- Raspagem supragengival quando necessário.

4.8.5 Seis meses após tratamento periodontal (podendo variar em ± 21 dias)

- Exame periodontal completo (PCS, NCI, SS, IP, IG e SUPUR).
- Coleta de sangue.
- Reavaliação das medicações.
- Avaliação da glicemia (capilar), pressão arterial e IMC.
- Raspagem supragengival quando necessário (INT e SUP).

4.9 Coleta de sangue

As coletas de sangue foram feitas para a avaliação de HbA1c e marcadores inflamatórios. As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa na Clínica Odontológica da FOUSP por um profissional habilitado. As amostras foram colhidas em tubos vacutainer com EDTA (5ml) e em tubos secos (20 ml). Após coletas e em temperatura ambiente, os tubos com EDTA foram levados ao laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário da USP para avaliação da HbA1c. Os tubos secos foram encaminhados ao Laboratório de Microbiologia Oral do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da USP em temperatura ambiente e centrifugado a 2.000 RCF (g) por 10 minutos para estocagem em freezer a -80°C até sua análise.

4.10 Dosagem de HbA1c

A dosagem de HbA1c foi realizada no Hospital Universitário da USP através da metodologia de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) por troca iônica, realizado no equipamento automatizado D-10 da Bio-Rad®.

4.11 Níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios

Alíquotas de soro foram armazenadas em tubos de microcentrífuga a -80°C até o momento do uso. Com a finalidade de dosar os níveis de marcadores inflamatórios, foi utilizado o ensaio de BIOPLEX. O painel utilizado foi o Bio-Plex Pro Human Cytokine 17- Plex Panel 1x96 (Bio-Rad®, Hercules, CA, EUA). O ensaio foi desenvolvido de acordo com o protocolo do fabricante. Resumidamente: o filtro de placa de 96 poços foi lavado com *Bioplex Assay Buffer* (Bio Rad, Hercules, CA, EUA). Em seguida as *beads* conjugadas com anticorpos anti-citocinas foram adicionadas, lavados com *Bioplex Wash Buffer* e, posteriormente, adicionadas as amostras de soro. Após incubação de 2 horas, a placa foi lavada com *Bioplex Wash Buffer* e adicionou-se o anticorpo de detecção em cada poço e incubado por

1 hora. Após esse período, novas lavagens com *Bioplex Wash Buffer* foram realizadas, sendo então adicionada a estreptavidina. Após um período de 30 minutos novas lavagens foram realizadas e as *beads* ressuspensas com *Bioplex Assay Buffer* e analisadas no Bioplex 200 Suspension Array System/ Luminex (Bio-Rad[®], Hercules, CA, EUA) através do Software Bio-Plex Manager, versão 4.1 (Bio-Rad[®], Hercules, CA, EUA). Foram avaliadas citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 β e TNF- α).

As análises foram feitas no Departamento de Imunologia do ICB -USP, sob responsabilidade do Prof. Niels Olsen Saraiva Câmara, com apoio técnico da Meire Ioshie Hiyane.

4.11 Cálculo do tamanho amostral

Em virtude do grande número de biomarcadores avaliados, o cálculo do tamanho amostral foi baseado em apenas um marcador (IL-6) através de um estudo piloto prévio, com 11 indivíduos em cada grupo (dados não apresentados). Para detectar uma diferença de 0,5 ng/ml e intervalo inter-quartil de 0,4 entre as medianas dos níveis de IL-6 entre os grupos INT e SUP com um erro alfa de 5% e beta 20% (*two-sided test*), seriam necessários 9 pacientes em cada grupo. O programa estatístico usado foi o OpenEpi (versão 3.01, lançado em 4 de Abril e revisado em 6 de Abril de 2013).

Para o desfecho clínico, foi feito um cálculo amostral assumindo uma diferença de 1 mm entre os grupos INT e SUP para redução nas medianas de sítios com PCS inicialmente profundos (>7mm), com 0,8 mm de intervalo inter-quartil esperado entre os grupos, com um erro alfa de 5% e beta de 20%. Seriam necessários 16 indivíduos em cada grupo (*two-sided test*). O programa estatístico usado foi o OpenEpi (versão 3.01, lançado em 4 de Abril e revisado em 6 de Abril de 2013).

4.12 Análise estatística

As análises imunológicas foram feitas através do software Prisma (Prism, v.5, GraphPad Software Inc., La Jolla, USA). Foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para verificação de aderência à curva de Gauss. As variáveis não seguiram uma distribuição de normalidade e foram analisados por métodos não paramétricos. As análises clínicas foram feitas através do software SPSS (SPSS for Windows, v. 17.0, SPSS Inc., Chicago, USA), considerando o indivíduo como unidade de estudo. As variáveis não seguiram uma distribuição normal (teste Kolmogorov), foram apresentadas e analisadas através de métodos não paramétricos. Os valores foram apresentados em medianas e percentis (25% e 75%). As comparações intragrupos foram feitas através do teste de *Wilcoxon signed rank test*, e as comparações intergrupos foram determinadas através do teste de *Mann-Whitney U test*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Os dados referentes à IP, IG e SS foram obtidos através de sítios positivos por paciente e, posteriormente, as porcentagens foram calculadas para os grupos. Para os dados relativos à PCS e NCI, medidos em milímetros, as medianas foram obtidas primeiramente por paciente e, após, para os grupos.

5 RESULTADOS

O fluxograma do estudo está representado na figura 5.1. Foram avaliados 732 indivíduos para este estudo. 691 foram excluídos por não preencherem os critérios de inclusão. 41 foram randomizados e alocados. 5 não foram acompanhados até o término do estudo. 36 indivíduos completaram os 6 meses de avaliação (Figura 5.1).

Figura 5.1 - Fluxograma do estudo

Os dados demográficos, HbA1c, IMC, e tempo médio de DMT2 dos participantes no início do estudo estão apresentados na tabela 5.1. Todos os pacientes apresentaram controle glicêmico inadequado (HbA1c > 8,0%). Os grupos eram similares em relação à idade, gênero, HbA1c, IMC, e tempo (anos) de DMT2 ($p > 0,05$) (Tabela 5.1).

Após 6 meses da terapia periodontal, a média de IMC dos grupos se manteve estável (SUP=27,1 ± 2,2 e INT=26,5 ± 3,8). A média de HbA1c foi de 9,8±1,4 para o grupo SUP (aumento em 0,6%) e 9,5±1,0 para o grupo INT (redução em 0,8%), estatisticamente, sem diferença significativa entre o período pré e pós-terapia

periodontal para os grupos SUP e INT ($p = 0,79$; $p = 0,64$; respectivamente) (*Wilcoxon signed rank test*). Também não houve diferença significativa entre os valores de HbA1c intergrupos após 6 meses da terapia periodontal ($p = 0,88$) (*Mann-Whitney U test*) (dados não apresentados em tabela).

Tabela 5.1 - Características demográficas, hemoglobina glicada (HbA1c), índice de massa corpórea (IMC) e tempo de diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) nos grupos SUP e INT no início do estudo

Dados demográficos, HbA1c, IMC e tempo de diabetes	Grupos		p valor
	SUP (n=18)	INT (n=18)	
Idade (anos) (média $\pm$ DP)	56,11 $\pm$ 10,32	58,51 $\pm$ 9,42	0,51
Gênero (% feminino)	67,1	72,82	0,34
HbA1c (% média $\pm$ DP)	9,18 $\pm$ 1,35	10,37 $\pm$ 1,16	0,28
IMC (média $\pm$ DP)	27,18 $\pm$ 2,20	26,54 $\pm$ 3,81	0,68
Tempo DMT2 (anos média $\pm$ DP)	7,64 $\pm$ 2,62	8,23 $\pm$ 1,90	0,11

DP: desvio padrão; HbA1c, hemoglobina glicada; IMC, índice de massa corpórea; DMT2, diabetes *mellitus* tipo 2. Não houve diferença entre os grupos para idade, HbA1c, IMC, duração do diabetes (Mann-Whitney; $p > 0,05$) e gênero (Qui-quadrado; $p > 0,05$).

Os grupos não apresentaram diferenças significativas em relação aos parâmetros clínicos periodontais no início do estudo (Tabela 5.2). As duas terapias apresentaram melhora, praticamente, em todos os parâmetros clínicos periodontais após 6 meses, com exceção de NCI no grupo SUP ($p > 0,05$). Embora não estatisticamente significativo, o grupo SUP apresentou aumento nos níveis de SUPUR após 6 meses ($p = 0,30$) (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 - Mediana (percentil 25% e 75%) dos parâmetros clínicos periodontais no início e 6 meses após o tratamento periodontal nos grupos SUP e INT

Parâmetros clínicos	Grupos		p valor
	SUP (n=18)	INT (n=18)	
IP (%)			
Início	87,21 (74,30 - 95,01)	83,54 (66,10 - 93,21)	0,32
6 meses	29,10 (22,91 - 38,32)	24,22 (6,13 - 31,78)	0,45
p valor	<0,01*	<0,01*	
IG (%)			
Início	67,10 (35,11 - 89,33)	65,97 (32,85 - 83,12)	0,23
6 meses	18,20 (13,20 - 33,51)	10,10 (5,98 -19,43)	0,87
p valor	<0,01*	<0,01*	
SUPUR (%)			
Início	1,20 (0,00 - 2,31)	0,00 (0,00 - 0,90)	0,09
6 meses	1,39 (0,00 - 3,20)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,01*
p valor	0,30	0,34	
PCS (mm)			
Início	4,36 (3,23 - 4,84)	4,85 (3,18 - 4,99)	0,20
6 meses	3,11 (2,71 - 3,45)	2,54 (2,29 - 2,91)	0,01*
p valor	0,02*	<0,01*	
NCI (mm)			
Início	4,87 (3,85 - 5,74)	4,91 (3,97 - 5,68)	0,08
6 meses	4,26 (3,57 - 4,92)	3,21 (2,74 - 4,11)	0,04*
p valor	0,09	<0,01*	
SS (%)			
Início	74,12 (53,42 - 84,78)	65,00 (45,31 - 68,01)	0,09
6 meses	44,01 (24,10 - 48,50)	12,21 (6,03 - 19,20)	<0,01*
p valor	0,02*	<0,01*	

*p estatisticamente significativo ($p < 0,05$) intra (vertical; *Wilcoxon signed rank test*) e intergrupos (horizontal; *Mann-Whitney U test*). IP, índice de placa; IG, índice gengival; SUPUR, supuração; PS, profundidade de sondagem; NCI, nível clínico de inserção; SS, sangramento a sondagem.

As reduções médias nos parâmetros clínicos periodontais PCS (4-6mm; $\geq$ 7mm) e NCI (4-6mm; $\geq$ 7mm), entre o início e o término do estudo, estão representadas na tabela 5.3. Na análise de todos os sítios, o grupo SUP apresentou uma redução de 1,04 mm na mediana de PCS ($p=0,03$) e de 0,42 mm na mediana de NCI ($p=0,26$). O grupo INT apresentou uma redução de 2,53 mm na mediana de PCS ($p<0,01$) e de 1,62 mm na mediana de NCI ($p=0,02$). Na análise estratificada de sítios inicialmente médios (4-6 mm), o grupo SUP apresentou uma redução de 1,22 mm na mediana da PCS ($p=0,03$) e de 0,62 mm na mediana do NCI ($p=0,51$). O grupo INT apresentou uma redução de 2,62 mm na mediana da PCS ($p<0,01$) e de 1,71 mm na mediana do NCI ($p=0,01$). Na análise estratificada de sítios inicialmente profundos, o grupo SUP apresentou uma redução de 0,74 mm na mediana da PCS ($p=0,77$) e de 0,25 mm na mediana do NCI ($p=0,45$). O grupo INT apresentou uma redução de 3,77 mm na mediana da PCS ($p<0,01$) e de 2,83 mm na mediana do NCI ($p<0,01$) (Tabela 5.3). Houve diferença significativa para as análises intergrupos para todos os parâmetros avaliados ($p<0,05$) (Tabela 5.3).

Não foram observados eventos adversos ou complicações locais/sistêmicas, decorrentes das terapias periodontais utilizadas.

O ensaio de BIOPLEX não foi capaz de detectar os níveis séricos de IL-2, IL-7, IL-8, IL-17, GM-CSF, IFN- γ . A figura 5.2 demonstra as alterações nos níveis séricos dos marcadores inflamatórios detectáveis. Não houve diferença estatisticamente significativa para IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, MIP-1 β e TNF- α nos grupos SUP e INT entre o início e após 6 meses do tratamento periodontal. Houve redução significativa para IL-6 ($p=0,01$); IL-12 ($p=0,04$), MCP-1 ($p=0,02$) e para G-CSF ($p=0,01$) no grupo INT. O grupo SUP apresentou redução significativa apenas para G-CSF ($p=0,04$) (Figura 5.2).

Tabela 5.3 - Mediana (percentil 25% e 75%) das reduções de PCS e NCI, entre o início e 6 meses após o tratamento periodontal nos grupos SUP e INT

Parâmetros Clínicos	Grupos	
	SUP (n=18)	INT (n=18)
Todos os sítios		
Δ PCS (mm) [£]	1,04 (1,31 - 0,57)*	2,53 (2,11 - 3,26)*
Δ NCI (mm) [£]	0,42 (0,31 - 0,88)	1,62 (1,42 - 1,94)*
Sítios inicialmente médios (4-6 mm)		
Δ PCS (mm) [£]	1,22 (1,11 - 1,65)*	2,62 (2,18 - 3,44)*
Sítios inicialmente profundos (≥ 7mm)		
Δ PCS (mm) [£]	0,74 (0,55 - 1,24)	3,77 (3,21 - 4,12)*
Sítios inicialmente médios 4-6mm		
Δ NCI (mm) [£]	0,62 (0,37 - 0,97)	1,71 (1,31 - 2,22)*
Sítios inicialmente profundos (≥ 7mm)		
Δ NCI (mm) [£]	0,25 (0,18 - 0,57)	2,83 (2,49 - 3,51)*

*Redução significativa intragrupos entre o início e 6 meses após terapia periodontal ($p < 0,05$; *Wilcoxon signed rank test*).

[£] Diferença significativa intergrupos entre início e 6 meses após terapia periodontal ($p < 0,05$; *Mann-Whitney U test*).

Figura 5.2 - Distribuição dos marcadores inflamatórios séricos antes e após 6 meses da terapia periodontal para os grupos SUP e INT

Figura 5.2. Efeito das diferentes terapias periodontais (SUP, terapia supragengival; INT, terapia intensiva) sobre as alterações séricas de IL (interleucina) IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, G-CSF (fator estimulador de colônias granulocitárias), MCP-1 (proteína quimiotática de monócito-1), MIP-1 β (proteína inflamatória de macrófago-1 β) e TNF- α (fator de necrose tumoral α), através de imunoensaio multiplex (Bioplex). Os diagramas representam as medianas (linha horizontal dentro do gráfico); os primeiros quartis (linha inferior do gráfico) e terceiros quartis (linha superior do gráfico); e os valores mínimos (limite inferior da linha) e máximos (limite superior da linha).

*Diferença estatisticamente significativa intragrupos (SUP e INT) pré e pós-terapias periodontais ($p < 0,05$; *Wilcoxon signed rank test*)

6 DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo, foi a redução dos níveis séricos de IL-6, IL-12, MCP-1 e G-CSF no grupo INT, acompanhada da redução nas bolsas periodontais inicialmente profundas e com sangramento à sondagem em indivíduos com DMT2 e controle glicêmico inadequado. Resultados semelhantes já foram encontrados previamente (Kardesler et al., 2010; Sun et al., 2011), porém, em um período de reavaliação menor (3 meses). Observamos também que a manutenção periodontal meticulosa, foi capaz de manter os níveis de saúde gengival através dos índices de IP e IG nos grupos INT e SUP, durante o período do estudo (6 meses). O estudo de Westfelt et al. (1996), mostrou que indivíduos diabéticos, sob manutenção periodontal, são capazes manter as condições de saúde periodontal por um período de 5 anos.

Em relação ao grupo SUP, observamos uma redução significativa somente em bolsas médias, como já observado nos estudos com indivíduos sem DMT2 (McNabb et al., 1992). Essa terapia foi selecionada para que tivéssemos um grupo controle, que respeitasse os preceitos éticos de beneficência e justiça, uma vez que fornecemos um tratamento mínimo aos indivíduos diagnosticados com periodontite e não os deixamos sem cuidados. Embora tenha sido preconizado como uma forma de terapia incompleta, observamos melhora em quase todos os parâmetros clínicos periodontais e limitada repercussão sistêmica, pois somente houve redução em G-CSF. Importante também destacar que houve um aumento nos níveis de SUPUR, embora não significativo estatisticamente. A presença de SUPUR em sítios de indivíduos com periodontite crônica pode indicar destruição periodontal aguda, manutenção de bactérias periodontopatogênicas e espécies “não-orais”, como *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* (Silva-Boghossian et al., 2013). Tais resultados demonstram a importância da raspagem subgengival, principalmente em sítios profundos, para o controle da infecção sistêmica e prevenção de complicações no DMT2.

A relação entre o controle da infecção periodontal e a infecção sistêmica no diabetes, ainda permanece contraditória, devido à complexa natureza das duas doenças e a dificuldade em determinar uma relação causal. Sabe-se que uma característica comum do diabetes é a hiperglicemia crônica, que traz como

consequência a glicação não enzimática e oxidação de proteínas e lipídios. Como resultado, há a formação irreversível de produtos finais da glicação avançada (AGEs). Os AGEs interagem com seus receptores celulares (RAGEs), geram stress oxidativo e aumento na secreção de mediadores inflamatórios (Ebersole et al., 2013). Alguns marcadores inflamatórios vêm sendo relacionados com complicações do diabetes, como a IL-6, e, mais recentemente, a IL-12. A IL-6 tem um importante papel no metabolismo da glicose e está relacionada a complicações vasculares (Suzuki et al., 2008; Loos et al., 2000) e resistência à insulina (Mealey; Oates, 2006). A IL-12 é uma citocina pró-inflamatória relacionada com aterosclerose, entretanto, ainda permanece obscura sua relação com o curso do DMT2 e resistência à insulina (Wegner et al., 2008). A terapia INT foi capaz de reduzir os níveis de IL-6 e IL-12, podendo prevenir eventuais complicações do DMT2.

Evidências crescentes sugerem, que indivíduos portadores de infecções/inflamações crônicas, têm mais chances de desenvolver outras doenças inflamatórias em locais secundários do seu corpo (Stein et al., 2007; Fisher et al., 2008; Detert et al., 2010; Rai et al., 2010; Cotti et al., 2011). A periodontite crônica severa generalizada pode ser considerada como um estado de bacteremia (Loesche; Lopatin, 1998; Hujoel et al., 2001). A inflamação tem relação com aterosclerose e neuropatia diabética, duas importantes causas de morbidade e mortalidade em indivíduos com DM (Potenza et al., 2009). Parcialmente, a aterogênese pode ser regulada por fatores quimiotáticos como MCP-1 e IL-8 (Gerszten et al., 1999). A MCP-1 também tem sido relacionada com hiperglicemia e resistência à insulina (Daniele et al., 2014). A terapia INT foi capaz de reduzir a proteína MCP-1 no soro, agindo como alguns medicamentos já previamente desenvolvidos (Li et al., 2012).

Inicialmente, G-CSF e GM-CSF foram descritos como fatores de crescimento pelas suas características de gerar colônias de granulócitos e macrófagos *in vitro* (Burgess; Metcalf, 1980). Após outros estudos *in vitro*, evidenciou-se que essas CSFs também poderiam ser consideradas como citocinas pró-inflamatórias (Hamilton et al., 1980). Atualmente, sabe-se que esses biomarcadores estão envolvidos na inflamação, infecção, maturação de granulócitos e macrófagos em diversas doenças. A persistência de altos níveis dessa citocina, contribui para a manutenção da inflamação crônica (Hamilton,

2008). Aliás, existe uma correlação entre as funções biológicas das CSFs e outras citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, TNF- α , IL-23 e IL-17 em algumas doenças crônicas (McKenzie et al., 2006; Fleetwood et al., 2007). Os resultados deste estudo mostraram que ambas as terapias são capazes de reduzir os níveis séricos de G-CSF. Em sítios inicialmente rasos e médios, podemos especular que a diminuição da inflamação gengival já é suficiente para ter um efeito sistêmico benéfico nos níveis de G-CSF, referente ao grupo SUP.

Os outros biomarcadores avaliados IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, MIP-1 β e TNF- α , permaneceram em seus níveis ou aumentaram em alguns indivíduos em ambos os grupos. Cabe ressaltar, que observamos uma grande variabilidade entre os indivíduos em relação à expressão sérica desses marcadores, tanto previamente, quanto após o término do estudo. A grande variabilidade individual em relação à resposta ao tratamento periodontal, antecipadamente, já foi reportada por Góska et al. (2003), porém, em indivíduos sem DMT2. A falta de controle da dieta, sedentarismo ou diferentes práticas de exercício físico, consistiria em uma explicação para a dificuldade em estabelecer um padrão de mediadores inflamatórios por grupo.

Outros trabalhos já observaram a diminuição de biomarcadores da inflamação, após tratamento periodontal não-cirúrgico em indivíduos sem DMT2 (D'Aiuto et al., 2010; 2013; Almaghlouth et al., 2014). Os resultados do presente estudo corroboram com tais trabalhos, embora tenhamos dificuldades em traçar comparações em virtude das diferenças metodológicas. Em relação à resposta clínica ao tratamento periodontal, os indivíduos deste estudo responderam tão bem quanto indivíduos sem DMT2 (D'Aiuto et al., 2005). Cabe ressaltar, que os níveis de HbA1c permaneceram inadequados, durante todo o período do estudo em ambos os grupos.

O diabetes com controle glicêmico inadequado predispõe os indivíduos à infecções e limitações dos mecanismos de defesa (Foss-Freitas et al., 2006; 2008). A possível bacteremia, causada pelo tratamento periodontal (Horliana et al., 2014) em indivíduos com imunidade celular comprometida, poderia aumentar o risco à infecções locais e/ou sistêmicas, sendo o motivo para que alguns protocolos recomendem a administração de antimicrobianos sistêmicos, previamente, à procedimentos odontológicos que envolvam sangramento. Embora tal possibilidade, ainda não existe consenso científico que justifique a profilaxia antibiótica em

indivíduos com DM descompensados (Tong; Rothwell, 2000; Rao et al., 2010). Atualmente, salientamos que o risco do uso inapropriado de antimicrobianos parece ser a principal causa da resistência bacteriana no mundo (Kuehn, 2014). Os resultados clínicos deste estudo, mostraram que a terapia INT, sem uso de antimicrobianos, foi capaz de reduzir todos os parâmetros clínicos periodontais em indivíduos descompensados. Outros trabalhos também já observaram melhora em parâmetros clínicos, sem uso de antimicrobianos em indivíduos com DMT2 descompensados (Dag et al., 2009; Correa et al., 2010; Chen et al., 2012). Ressalva-se que não foram observadas complicações locais e/ou sistêmicas (dor generalizada, linfadenopatia e febre $> 38^{\circ}\text{C}$) nos participantes ao longo do estudo.

Um relatório recente sobre periodontite e diabetes, afirmou que a terapia periodontal é capaz de reduzir os níveis de HbA1c em 0,36% em um período de 3 meses (Engebretson; Kocher, 2013). Tal resultado corrobora com os achados de uma recente meta-análise (Chapple et al., 2013). No presente estudo, ambos os grupos foram considerados como inadequadamente controlados em relação à glicemia, uma vez que os níveis de HbA1c foram superiores a 7,0% (ADA, 2012) no início do trabalho e assim permaneceram. Embora não tenha sido um desfecho pretendido, observamos que não houve diferença estatística entre o início e 6 meses pós terapia, pois os valores médios de HbA1c aumentaram em 0,7% no grupo SUP e diminuíram em 0,8% grupo de INT.

Em relação às limitações deste trabalho, observamos que o controle da dieta e da atividade física poderiam esclarecer, de forma mais precisa, os mecanismos imunocelulares que relacionam a periodontite crônica e o DMT2. Outra limitação foi em relação às medicações utilizadas pelos pacientes, pois não conseguimos um grupo que utilizasse as mesmas medicações sistêmicas. Recomendamos que estudos futuros tenham um controle da dieta, atividade física e um número maior de indivíduos para que subgrupos possam ser formados, conforme as medicações utilizadas. O preferível seria um estudo multicêntrico.

Enquanto a ciência caminha para responder as questões relacionadas à periodontite e ao DMT2, essencial é promover a saúde periodontal como parte de um estilo de vida saudável, influenciando ou não nas eventuais complicações metabólicas.

7 CONCLUSÕES

A terapia periodontal intensiva tem um efeito benéfico na redução dos níveis séricos de IL-6, IL-12 e MCP-1, no ganho de inserção de sítios médios e profundos e na redução de bolsas periodontais profundas quando comparado à terapia supragengival, considerando indivíduos com DMT2 acompanhados por um período de 6 meses.

REFERÊNCIAS¹

ADA. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. [2012]. [cited 2014 march 30]. Available from: http://care.diabetesjournals.org/content/30/suppl_1/S4.short#.

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975;25(4):229-35.

Almaghlouth AA, Cionca N, Cancela JA, Décaillet F, Courvoisier DS, Giannopoulou C, et al. Effect of periodontal treatment on peak serum levels of inflammatory markers. *Clin Oral Investig*. 2014 Jan 23. [Epub ahead of print].

Al-Shukaili A, Al-Ghafri S, Al-Marhoobi S, Al-Abri S, Al-Lawati J, Al-Maskari M. Analysis of inflammatory mediators in type 2 diabetes patients. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:976810.

Armitage GC. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Piodontology. Diagnosis of periodontal diseases. *J Periodontol*. 2003;74(8):1237-47.

Armitage GC. Learned and unlearned concepts in periodontal diagnostics: a 50-year perspective. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):20-36.

Auyeung L, Wang PW, Lin RT, Hsieh CJ, Lee PY, Zhuang RY, et al. Evaluation of periodontal status and effectiveness of non-surgical treatment in patients with type 2 diabetes mellitus in Taiwan for a 1-year period. *J Periodontol*. 2012;83(5):621-8.

Bergman M. Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 2013;43(3):504-13.
Velloso LA, Eizirik DL, Cnop M. Type 2 diabetes mellitus--an autoimmune disease? *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9(12):750-5.

Burgess AW, Metcalf D. The nature and action of granulocyte–macrophage colony stimulating factors. *Blood*. 1980;56(6):947-58.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes Data & Trends. [2011] [cited 2014 maio 20]. Available from: <http://apps.nccd.cdc.gov/DDTSTRS/default.aspx>.

Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):57-80.

Chapple IL, Genco R; Working group 2 of joint EFP/AAP workshop (2013) Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol*. 2013;14(Suppl):S106-12.

Chen L, Luo G, Xuan D, Wei B, Liu F, Li J, et al. Effects of non-surgical periodontal treatment on clinical response, serum inflammatory parameters, and metabolic control in patients with type 2 diabetes: a randomized study. *Periodontol*. 2012;83(4):435-43.

Choi YH, McKeown RE, Mayer-Davis EJ, Liese AD, Song KB, Merchant AT. Association between periodontitis and impaired fasting glucose and diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(2):381-6.

Correa FO, Gonçalves D, Figueredo CM, Bastos AS, Gustafsson A, Orrico SR. Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*. 2010;37(1):53-8.

Cotti E, Dessi C, Piras A, Mercurio G. Can a chronic dental infection be considered a cause of cardiovascular disease? A review of the literature. *Int J Cardiol*. 2011; 148(1):4-10.

Dağ A, Firat ET, Arikan S, Kadiroğlu AK, Kaplan A. The effect of periodontal therapy on serum TNF-alpha and HbA1c levels in type 2 diabetic patients. *Aust Dent J*. 2009;54(1):17-22.

D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*. 2004;83(2):156-60.

D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res*. 2005 Mar;84(3):269-73.

D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*. 2010;89(11):1241-6.

D'Aiuto F, Orlandi M, Gunsolley JC. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. *J Periodontol*. 2013;84(4 Suppl):S85-S105.

Daniele G, Guardado Mendoza R, Winnier D, Fiorentino TV, Pengou Z, Cornell J, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2014;51(1):123-31.

Demmer RT, Jacobs DR Jr, Desvarieux M. Periodontal disease and incident type 2 diabetes: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiologic follow-up study. *Diabetes Care*. 2008;31(7): 1373-9.

Dentino A, Le ES, Mailhot J, Hefti . Principles of periodontology. *Periodontol* 2000. 2013;61(1):16-53.

Detert J, Pischon N, Burmester G, Buttgereit F. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(5):218.

Duarte PM, Bezerra JP, Miranda TS, Feres M, Chambrone L, Shaddox LM. Local levels of inflammatory mediators in uncontrolled type 2 diabetic subjects with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014 Jan;41(1):11-8.

Ebersole JL, Capelli D. Acute- phase reactants in infections and inflammatory disease. *Periodontol* 2000. 2000; 23:19-49.

Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: 'double indemnity in protecting the host'. *Periodontol* 2000. 2013; 62(1):163-202.

Engelbreton S, Kocher T. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2013; 84(4 Suppl):S153-69.

Engelbreton SP, Hyman LG, Michalowicz BS, Schoenfeld ER, Gelato MC, Hou W, et al. The effect of nonsurgical periodontal therapy on hemoglobin A1c levels in persons with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2013 Dec 18;310(23):2523-32.

Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Apr 13. pii: S0168-8227(14)00187-9.

Fernández-Real JM, Pickup JC. Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2012;55(2):273-8.

Fisher MA, Taylor GW, Shelton BJ, Jamerson KA, Rahman M, Ojo AO, et al. Periodontal disease and other nontraditional risk factors for CKD. *Am J Kidney Dis* 2008;51(1):45-52.

Fleetwood AJ, Lawrence T, Hamilton JA, Cook AD. GM-CSF and M-CSF (CSF-1)-dependent macrophage phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities - implications for CSF blockade in inflammation. *J Immunol.* 2007;178(8):5245-52.

Foss-Freitas MC, Foss NT, Donadi EA, Foss MC. In vitro TNF-alpha and IL-6 production by adherent peripheral blood mononuclear cells obtained from type 1 and type 2 diabetic patients evaluated according to the metabolic control. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1079:177-80.

Foss-Freitas MC, Foss NT, Donadi EA, Foss MC. Effect of the glycemic control on intracellular cytokine production from peripheral blood mononuclear cells of type 1 and type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008;82(3):329-34.

Galloway C, Chattopadhyay M. Increases in inflammatory mediators in DRG implicate in the pathogenesis of painful neuropathy in Type 2 diabetes. *Cytokine.* 2013;63(1):1-5.

Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res.* 2010;89(12):1349-63.

Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2004;35:21-41.

Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA Jr, et al. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature.* 1999;22;398(6729):718-23.

Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2003;30(12):1046-52.

Graves DT. The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression. *Clin Infect Dis*. 1999;28(3):482-90.

Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J periodontol*. 2008; 79(8 Suppl):1585-91.

Guarda G, Dostert C, Staehli F, Cabalzar K, Castillo R, Tardivel A, et al. T cells dampen innate immune responses through inhibition of NLRP1 and NLRP3 inflammasomes. *Nature*. 2009 Jul 9;460(7252):269-73.

Gurav AN. Advanced glycation end products: a link between periodontitis and diabetes mellitus? *Curr Diabetes Rev*. 2013;9(5):355-61.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004;27(5):1047-53.

Hamilton JA, Stanley ER, Burgess AW, Shadduck RK. Stimulation of macrophage plasminogen activator activity by colony-stimulating factors. *J Cell Physiol*. 1980 Jun;103(3):435-45.

Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat rev Immunol*. 2008;8(7):533-44.

Hans M, Hans VM. Toll-like receptors and their dual role in periodontitis: a review. *J Oral Sci*. 2011;53(3):263-71.

Horliana AC, Chambrone L, Foz AM, Artese HP, Rabelo MS Pannuti CM; et al. Dissemination of periodontal pathogens in the bloodstream after periodontal procedures: a systematic review. *Plos One*, 2014;9(5):e98271.

Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006; 14;444(7121):860-7.

Hujoel PP, Drangsholt M, Spiekerman C, Derouen TA. Examining the link between coronary heart disease and the elimination of chronic dental infections. *J Am Dent Assoc.* 2001;132(7):883-9.

Janket SJ, Wightman A, Baird AE, Van Dyke TE, Jones JA. Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? A meta-analysis of intervention studies. *J Dent Res.* 2005;84(12):1154-9.

Javed F, Al-Askar M, Al-Hezaimi K. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of periodontitis patients with and without type 2 diabetes: a literature review. *J Periodontol.* 2012;83(2):156-61.

Kardesler L, Buduneli N, Cetinkalp S, Kinane DF. Adipokines and inflammatory mediators after initial periodontal treatment in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2010;81(1):24-33.

Kebschull M, Demmer RT, Papapanou PN. "Gum bug, leave my heart alone!"-epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent Res.* 2010;89(9):879–902.

Kinane DF, Bartold PM. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2007;43:278-93.

King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol.* 2008;79(8):1527-34.

Kuehn BM. CDC: Hospital antibiotic use promotes resistance: checklist can improve practices. *JAMA.* 2014;311(15):1485-6.

Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7(12):738-48

Li J, Guo Y, Luan X, Qi T, Li D, Chen Y, et al. Independent roles of monocyte chemoattractant protein-1, regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted and fractalkine in the vulnerability of coronary atherosclerotic plaques. *Circ J.* 2012;76(9):2167-73.

Lin SJ, Tu YK, Tsai SC, Lai SM, Lu HK. Non-surgical periodontal therapy with and without subgingival minocycline administration in patients with poorly controlled type

II diabetes: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2012;16(2):599-609.

Löe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1993;16(1):329-34.

Loesche WJ, Lopatin DE. Interactions between periodontal disease, medical diseases and immunity in the older individual. *Periodontol 2000*. 1998;16:80-105.

Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol*. 2000;71(10):1528-34.

McNabb H, Mombelli A, Lang NP. Supragingival cleaning 3 times a week. The microbiological effects in moderately deep pockets. *J Clin Periodontol*. 1992;19(5):348-56.

McKenzie BS, Kastelein RA, Cua DJ. Understanding the IL-23–IL-17 immune pathway. *Trends Immunol*. 2006;27(1):17-23.

Mealey BL, Oates TW; American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006;77(8):1289-303.

Morita I, Inagaki K, Nakamura F, Noguchi T, Matsubara T, Yoshii S, et al. Relationship between periodontal status and levels of glycated hemoglobin. *J Dent Res*. 2012;91(2):161-6.

Nassar H, Kantarci A, van Dyke TE. Diabetic periodontitis: a model for activated innate immunity and impaired resolution of inflammation. *Periodontol 2000*. 2007;43:233-44.

O'Connell PA, Taba M, Nomizo A, Foss Freitas MC, Suaid FA, et al. Effects of periodontal therapy on glycemic control and inflammatory markers. *J Periodontol*. 2008;79(5):774-83.

Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia*. 1997;40(11):1286-92.

Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*. 1998;41(10):1241-8.

Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.

Potenza MA, Gagliardi S, Nacci C, Carratu' MR, Montagnani M. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets. *Curr Med Chem*. 2009;16(1):94-112.

Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*. 2012;55(1):21-31.

Rai B, Kaur J, Anand SC. Possible relationship between periodontitis and dementia in a North Indian old age population: a pilot study. *Gerodontology* 2010;29(2):e200-5.

Rao DD, Desai A, Kulkarni RD, Gopalkrishnan K, Rao CB. Comparison of maxillofacial space infection in diabetic and nondiabetic patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;110(4):e7-12.

Ribeiro FV, de Mendonça AC, Santos VR, Bastos MF, Figueiredo LC, Duarte PM. Cytokines and bone-related factors in systemically healthy patients with chronic periodontitis and patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2011;82(8):1187-96.

Rosenson RS, Fioretto P, Dodson PM. Does microvascular disease predict macrovascular events in type 2 diabetes? *Atherosclerosis*. 2011;218(1):13-8.

Sánchez-Zamora YI, Rodriguez-Sosa M. The role of MIF in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res*. 2014;2014:804519.

Sexton WM, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR 3rd, Ebersole JL, Miller CS. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *J Clin Periodontol*. 2011;38(5):434-41.

Silva-Boghossian CM, Neves AB, Resende FA, Colombo AP. Suppuration-associated bacteria in patients with chronic and aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2013;84(9):e9-e16.

Simpson TC, Needleman I, Wild SH, Moles DR, Mills EJ (2010). Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;12(5):CD004714.

Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):7-19.

Stein PS, Desrosiers M, Donegan SJ, Yepes JF, Kryscio RJ. Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun Study. *J Am Dent Assoc*. 2007;138(10):1314-22.

Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal intervention in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Intern Med*. 2011; 50(15):1569-74.

Suzuki T, Katz R, Jenny NS, Zakai NA, LeWinter MM, Barzilay JI, et al. Metabolic syndrome, inflammation, and incident heart failure in the elderly: the cardiovascular health study. *Circ Heart Fail*. 2008;1(4):242-8.

Taylor GW. Bidirectional Interrelationships between diabetes and periodontal disease: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol*. 2001;6(1):99-112.

Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Dis*. 2008;14(3):191-203.

Teeuw WJ, Gerdes VE, Loos BG. Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*. 2010; 33(2):421-7.

Tong DC, Rothwell BR. Antibiotic prophylaxis in dentistry: a review and practice recommendations. *J Am Dent Assoc*. 2000;131(3):366-74.

Tuttle HA, Davis-Gorman G, Goldman S, Copeland JG, McDonagh PF. Proinflammatory cytokines are increased in type 2 diabetic women with cardiovascular disease. *J Diabetes Complications*. 2004;18(6):343-51.

Wegner M, Winiarska H, Bobkiewicz-Kozłowska T, Dworacka M. IL-12 serum levels in patients with type 2 diabetes treated with sulphonylureas. *Cytokine*. 2008;42(3):312-6.

World Health Organization (WHO). Media Centre/ Diabetes. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia [2006] [cited 2014 Maio 20]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241594934_eng.pdf

Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm of the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003;82(2):82-90.

Zhu J1, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:445-89.

Westfelt E, Rylander H, Blome G, Jonasson P, Lindhe J. The effect of periodontal therapy in diabetics. Results after 5 years. *J Clin Periodontol*. 1996;23(2):92-100.

Zielinski CE, Mele F, Aschenbrenner D, Jarrossay D, Ronchi F, Gattorno M, et al. Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN- γ or IL-10 and are regulated by IL-1 β . *Nature*. 2012;26;484(7395):514-8.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER DE APROVAÇÃO
FR 284313
Protocolo 127/2009

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa **“Tratamento periodontal e controle metabólico de pacientes com diabetes tipo 2”**, de responsabilidade dos Pesquisadores Adriana Moura Foz, Giovane Hisse Gomes e Hilana P.C. Artese e Mariana de Sousa Rabelo, sob orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a.) Giuseppe Alexandre Romito.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em “cd”. Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 12 de novembro de 2009.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Título da Pesquisa: Tratamento Periodontal e Controle Metabólico em pacientes portadores de Diabetes Tipo 2****1. Dados de Identificação do Sujeito da Pesquisa ou Responsável Legal:**

Nome: _____

Nº do Documento de Identidade: _____

Sexo: M () F ()

Data de Nascimento: ____/____/____

Endereço: _____

Bairro: _____ Estado: _____

CEP: _____ Telefone: () _____

2. Informações sobre a pesquisa científica:

Este documento contém informações sobre esta pesquisa, da qual o Sr. (a) poderá participar. Por favor, leia atentamente e, em caso de dúvidas, estaremos à sua disposição para esclarecimentos.

2.1. Objetivos da pesquisa

Esta pesquisa pretende verificar se o tratamento da sua gengiva traz melhoras para a sua condição, no que se diz respeito à Diabetes Tipo 2.

2.2. Benefícios ao paciente

A pesquisa dará ao Sr. (a) o diagnóstico de sua condição periodontal, além do tratamento odontológico, que deve resultar na melhora da sua saúde bucal.

2.3. O que será realizado no paciente

Após sua seleção e seu consentimento, devidamente assinado ao final deste termo, o Sr. (a) será encaminhado para a clínica de pós-graduação da Faculdade de Odontologia da USP, localizada na Av. Prof. Lineu Prestes, 2222, Cidade Universitária, onde serão realizadas as consultas odontológicas, para o exame e tratamento periodontal, assim como a coleta de sangue. Serão realizados: exame gengival, que visa saber a condição de sua gengiva; orientação de higiene bucal e o tratamento periodontal, que é a raspagem dos dentes para remover a placa e o tártaro acumulados. A raspagem será feita sob anestesia, se preciso. Iremos também recolher amostras de sangue em todas as visitas que o Sr. (a) comparecer, para podermos analisar sua glicemia e outros valores que podem influenciar sua diabetes, e também iremos aferir sua pressão arterial. Em torno de 2 meses após o primeiro tratamento, iremos fazer um novo exame gengival, e, se preciso, iremos complementar o tratamento. A complementação do tratamento pode ser com apenas uma nova sessão de

raspagem, ou uma cirurgia de gengiva, que visa melhorar as áreas que ainda estiverem inflamadas. Esses procedimentos são seguros e não provocam dano físico ou moral ao Sr. (a). Em caso de eventuais dúvidas relacionadas aos aspectos éticos da pesquisa, disponibilizamos o endereço do comitê de ética em pesquisa da UNIFESP: Rua Botucatu, 572- 1º andar - conj. 14-CEP 04023-062-São Paulo/ Brasil. Telefone: (11) 5571-1062/ (11) 5539-7162.

2.4. Se houver necessidade de outro exame para diagnóstico?

Caso haja necessidade, os exames odontológicos e de sangue serão repetidos.

2.5. Compensação

Não há previsão de indenizações ou pagamentos aos pacientes, pois não existirão gastos ou riscos graves relacionados à pesquisa. Os procedimentos realizados farão parte de rotina de tratamento.

2.6. Garantias ao paciente

Como participante dessa pesquisa, o Sr. (a) terá acesso aos resultados obtidos e permitirá o acesso dos mesmos aos pesquisadores envolvidos e aos membros da Comissão de Ética. Os resultados desse trabalho poderão ser apresentados em congressos ou publicados em revistas científicas, sendo a identidade do Sr. (a) sempre preservada. O Sr.(a) terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa. Além disso, o Sr. (a) terá direito à privacidade e todas as informações obtidas dos prontuários clínicos e ambulatoriais, permanecerão confidenciais, nos âmbitos da lei, assegurando a proteção de sua imagem e identidade. Está assegurada ao Sr.(a) a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento, e de deixar de participar da pesquisa, sem que isto lhe traga qualquer prejuízo. Caso seja necessário, o contato com os pesquisadores responsáveis poderá ser feito pelos telefones: Adriana Foz (8293-2299), Giovane Gomes (7144-5609) e Hilana Artese (7896-5536). Em caso de dano decorrente ao estudo, os pesquisadores responsáveis prestarão assistência integral ao paciente que sofreu o dano.

CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Declaro que, tendo lido e compreendido o termo de informação e consentimento para a pesquisa clínica, concordo em participar deste estudo. Sei que minha participação é voluntária e que posso interrompê-la a qualquer momento, sem penalidades. Autorizo a utilização dos dados obtidos pelos pesquisadores para a publicação em revistas científicas e apresentação em Congressos. Recebi uma cópia do termo de informação para participar da pesquisa. Todas as páginas do termo de consentimento livre e esclarecido devem ser rubricadas pelo pesquisador principal e pelo paciente/responsável legal.

Assinatura do Paciente

Assinatura do Responsável Legal

Assinatura do Pesquisador

São Paulo, ____ de _____ de ____.

ANEXO C - Ficha de Anamnese

Data: / /	nº paciente
Pesquisador:	

PROJETO DE PESQUISA

TRATAMENTO PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM PACIENTES PORTADORES DE DMT2

ANAMNESE

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____ RG : _____
 Data de nascimento ____/____/____ Idade: _____
 Naturalidade _____ Nacionalidade _____
 Nível de escolaridade: _____ Profissão: _____
 Renda familiar em salário(s) mínimo(s): () 1-2 () 3-4 () 5 ou mais

Endereço: _____ nº _____
 CEP: _____ Bairro: _____ Cidade: _____
 Telefone: _____ Tel. de Recado: _____
 Celular: _____

Etnia: () Branco () Negro () Outros: _____

Estado Civil: () Casado () Solteiro () Outros: _____

Gênero: () Masculino () Feminino

HISTÓRIA MÉDICA

Possui algum outro problema de saúde ? Sim () Não ()

- () HAS _____
 () Cardiopatia _____
 () Alergias _____
 () Distúrbios Gastrointestinais _____
 () Coagulopatias _____
 () Doenças Respiratórias _____
 () Doenças Geniturinárias _____
 () Doenças Infectocontagiosas _____
 () Distúrbios Neurológicos _____
 () Internações _____
 () Outros _____

HÁBITOS NOCIVOS

	SIM	NÃO	Quantidade Dia /Mês	Parou há quanto tempo	Observação
Tabagismo					
Etilismo					
Outros					

DIABETES

Hereditariedade para diabetes? () Sim () Não () Não sabe

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

Obesidade? () Sim () Não

É sedentário? () Sim () Não Tipo de atividade física/ frequência _____

Está em uso de medicação? () Sim () Não () Não Sabe

Qual(is) _____

Outras complicações:

- () Retinopatia () Angiopatia () Doença Renal Crônica () Neuropatia periférica
 () Doença macrovascular (coronária e vascular cerebral) () Pé diabético

HIGIENE BUCAL

Escova os dentes? () Sim () Não

Quantas vezes ao dia: _____

Usa fio/fita dental? () Sim () Não

Quantas vezes ao dia: _____

Eu _____

RG _____, declaro para todos os fins legais, que as informações sobre o meu estado de saúde são verdadeiras e que nada omiti no questionário realizado. Concordo também em participar do projeto de pesquisa "TRATAMENTO PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM PACIENTES PORTADORES DE DMT2", sabendo que farei apenas o tratamento periodontal e, se necessário, serei encaminhado para outros tratamentos odontológicos, como por exemplo, tratamentos de prótese e/ou canal.

Assinatura _____

Assinatura da testemunha _____
 (em casos de analfabetos, semi-analfabeto ou portadores de deficiência)

Data ____/____/____

[illegible]

ANEXO E - Ficha para solicitação de exame HbA1c

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE PERIODONTIA

PROJETO DE PESQUISA

TRATAMENTO PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM PACIENTES PORTADORES DE DMT2

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

ID no projeto _____ RG : _____

Data de nascimento ____/____/____ Idade: _____

Gênero: () Masculino () Feminino

Número da coleta: _____

Data: ____/____/____

Assinatura e carimbo

OBS: O paciente deverá sempre levar um documento com foto

PROJETO DE PESQUISA
TRATAMENTO PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM PACIENTES PORTADORES DE DMT2

Nome: _____ Número: _____
 Data: _____ Consulta: _____ Pesquisador: _____ Peso: _____

VESTIBULAR														
	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
IP														
IG														
PCS														
NCI														
SS														
SUPUR														
PALATINA														
IP														
IG														
PCS														
NCI														
SS														
SUPUR														
VESTIBULAR														
	37	36	35	34	33	32	31	41	42	43	44	45	46	47
IP														
IG														
PCS														
NCI														
SS														
SUPUR														
LINGUAL														
IP														
IG														
PCS														
NCI														
SS														
SUPUR														