



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Campus de São José dos Campos  
Instituto de Ciência e Tecnologia

**JULIANA DE FÁTIMA PEDROSO**

**INFLUÊNCIA DA DOENÇA PERIODONTAL SOBRE OS FATORES  
DE RISCO PARA ATEROSCLEROSE EM PACIENTES  
PORTADORES DE DIABETES MELLITUS**

2018

**JULIANA DE FÁTIMA PEDROSO**

**INFLUÊNCIA DA DOENÇA PERIODONTAL SOBRE OS FATORES  
DE RISCO PARA ATEROSCLEROSE EM PACIENTES  
PORTADORES DE DIABETES MELLITUS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área de Microbiologia e Imunologia.

Orientadora: Profa. Adj. Maria Ap. Neves Jardim  
Coorientador: Prof. Tit. Antônio Martins Figueiredo

São José dos Campos

2018

## **BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Adj. Maria Aparecida Neves Jardim** (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituição de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Prof. Dr. José Benedito Oliveira Amorim**

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituição de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Prof. Dr. Milton Santamaria Júnior**

Centro Universitário Hermínio Ometto

UNIARARAS- Araras- SP

São José dos Campos, 08 de janeiro de 2018.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Programa Biopatologia Bucal e ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos por me acolher como aluna do Programa de Pós-Graduação.

Agradeço ao Laboratório LabViVale e ao Instituto de Física da USP pela parceria nas etapas laboratoriais.

Agradeço as funcionárias Márcia, Valéria e Jacqueline do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia pela colaboração nos atendimentos clínicos.

Agradeço aos alunos de graduação, Vinícius Santos de Souza e Aline de Castro Santos, pelo auxílio durante os atendimentos clínicos.

Agradeço à professora Andrea Carvalho de Marco, professor Mauro Pedrine Santamaria, professor Antônio Figueiredo, Dra. Andrea Monteiro e Maiara Arruda Schulz pela parceria durante o projeto.

Agradeço à Professora Maria Ap. Neves Jardini pela oportunidade em desenvolver este estudo e por confiar a mim este trabalho.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Mãre Teresa de Calcuta)*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>07</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>08</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>09</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 Amostra.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1.1 Critérios de Inclusão.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1.2 Critérios de Exclusão.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Delineamento do estudo.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2.1 Terapia periodontal inicial.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2.2 Tratamento periodontal.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2.3 Medidas clínicas periodontais.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Análises laboratoriais.....</b>	<b>17</b>
<b>3.3.1 Coleta de sangue.....</b>	<b>17</b>
<b>3.3.2 Preparação da LDL.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3.3 Oxidação da LDL.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3.4 Dosagem de HDL, triacilglicerol e colesterol total.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3.5 Detecção de anticorpos contra oxLDL.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3.6 Análises física através de Z-scan.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Análise estatística.....</b>	<b>21</b>
<b>4 RESULTADO.....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 Dados demográficos.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Parâmetros clínicos periodontais.....</b>	<b>22</b>
<b>4.3 Parâmetros lipídicos.....</b>	<b>23</b>
<b>4.4 Parâmetros inflamatórios.....</b>	<b>24</b>
<b>4.5 Parâmetros glicêmicos.....</b>	<b>24</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>31</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>32</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>47</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Aterosclerose
CT	Colesterol Total
DM2	Diabetes Mellitus
DP	Doença Periodontal
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IG	Índice Gengival
IP	Índice de Placa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NIC	Nível de Inserção Clínico
oxLDL	Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidada
PC	Periodontite Crônica
PCR-us	Proteína C reativa
PS	Profundidade de Soldagem
RG	Recessão Gengival Relativa
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
TG	Triacilglicerol



Pedroso JF. Influência da doença periodontal sobre os fatores de risco para aterosclerose em pacientes portadores de Diabetes Mellitus [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2018.

## RESUMO

A Doença Periodontal (DP) e o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) apresentam a mesma etiopatogênese inflamatória e demonstram uma relação bidirecional, pois DM2 afeta a severidade da DP, e esta pode contribuir para a carga inflamatória total do indivíduo, influenciando a evolução do DM2. O objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento de aterosclerose em pacientes portadores de DM2, com e sem periodontite crônica. Foram analisados 48 pacientes, os quais foram divididos em 2 grupos: Teste (pacientes diabéticos com periodontite crônica) e Controle (pacientes diabéticos sem periodontite crônica). O grupo teste foi tratado com debridamento periodontal e o grupo controle recebeu profilaxia supragengival. Ambos os grupos receberam controle de placa a cada 3 meses. No baseline e 6 meses após o tratamento, foi realizada tomada dos parâmetros clínicos periodontais (IP, IG, PS, RG e NIC) e coleta de sangue para avaliação dos marcadores séricos inflamatórios (oxLDL, CT, TG, LDL, HDL, glicose, HbA1c, PCR-us, leucócitos e neutrófilos). Os parâmetros periodontais mostraram melhora significativa ( $p < 0,05$ ) no grupo teste, exceto RG. IP e IG também diminuíram significativamente no grupo controle após 6 meses. CT e HbA1c apresentaram taxas significativamente maiores no grupo teste, em comparação com o grupo controle. As taxas de PCR-us e HbA1c diminuíram significativamente no grupo teste após a terapia periodontal. A contagem de leucócitos mostrou uma diminuição relevante no grupo controle durante o tempo do estudo. A terapia periodontal promove melhoras nos parâmetros clínicos periodontais, nos parâmetros inflamatórios e nas taxas de HbA1c em pacientes portadores de DM2 e periodontite, mas não interfere nos níveis séricos de oxLDL.

Palavras-chave: Doença Periodontal. Diabetes Mellitus tipo 2. *oxLDL*. Aterosclerose.

*Pedroso JF. Influence of periodontal disease on risk factors for atherosclerosis in patients with Diabetes Mellitus [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2018.*

## **ABSTRACT**

*Periodontal Disease (DP) and Type 2 Diabetes Mellitus (DM2) present the same inflammatory etiopathogenesis and demonstrate a bidirectional relationship, since DM2 affects the severity of PD, and this may contribute to the individual's total inflammatory load, influencing the evolution of DM2. The objective of the present study was to evaluate the risk factors for the development of atherosclerosis in patients with T2DM, with and without chronic periodontitis. We analyzed 48 patients, who were divided into 2 groups: Test (diabetic patients with chronic periodontitis) and Control (diabetic patients without chronic periodontitis). The test group was treated with periodontal debridement and the control group received supragingival prophylaxis. Both groups received plaque control every 3 months. Periodontal clinical parameters (IP, IG, PS, RG and NIC) and collection of blood for evaluation of serum inflammatory markers (oxLDL, CT, TG, LDL, HDL, glucose, HbA1c, hs-CRP, leukocytes and neutrophils). The periodontal parameters showed significant improvement ( $p < 0.05$ ) in the test group, except for RG. IP and IG also decreased significantly in the control group after 6 months. CT and HbA1c presented significantly higher rates in the test group compared to the control group. Rates of Hs-1c and HbA1c decreased significantly in the test group after periodontal therapy. The leukocyte count showed a significant decrease in the control group during the study time. Periodontal therapy promotes improvements in periodontal clinical parameters, inflammatory parameters and HbA1c rates in patients with DM2 and periodontitis, but does not interfere with serum levels of oxLDL.*

*Keywords: Periodontal disease. Diabetes Mellitus type 2. oxLDL. Atherosclerosis.*

## 1 INTRODUÇÃO

A Periodontite Crônica (PC) é uma infecção de origem bacteriana, caracterizada por um processo inflamatório destrutivo, devido à ação de bactérias e seus produtos. Sua manifestação provém da interação entre o agente causador e a resposta imune e inflamatória do hospedeiro (Dentino et al., 2013).

A Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença crônica metabólica na qual o pâncreas não produz insulina o suficiente ou o organismo se torna incapaz de utilizá-la de forma efetiva (Brugués et al., 2016). Apresenta alta prevalência mundial e pode acometer, até o ano de 2030, 439 milhões de pessoas no planeta (Shaw et al., 2010). A resposta imune e a presença exacerbada de citocinas estão correlacionadas com o início e desenvolvimento da DM2, caracterizada como uma doença inflamatória (Schmidt et al., 1999; Pradhan et al., 2001; Duncan et al., 2003; Kolb et al., 2005; Hotamisligil et al., 2006; Donath et al., 2011; Morettini et al., 2015;).

O DM2 é considerado um fator de risco para o desenvolvimento de doenças periodontais (Pinson et al., 1995; Page et al., 1997), enquanto que indivíduos portadores de PC apresentam uma prevalência significativamente maior de diabetes quando comparado com pacientes sem doenças periodontais (Soskone, 2001). DM2 e PC, por apresentarem a mesma etiopatogênese inflamatória (Acharya et al., 2015), demonstram uma relação bidirecional, pois DM2 afeta a severidade da PC, e esta pode contribuir para a carga inflamatória total do indivíduo, influenciando o curso natural do DM2 (Bascones-Martinez et al., 2011).

Processos inflamatórios, além de apresentarem produção anormal de citocinas, promovem estresse oxidativo (Bullon et al., 2014), definido como o grave desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a defesa antioxidante, levando a um possível dano tecidual (Halliwell 1995). Os mecanismos da inflamação demandam energia, a qual é produzida nas mitocôndrias, por meio de processos oxidativos. Sendo assim, as respostas inflamatórias induzem maior geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). O estresse oxidativo, pode ser o ponto chave para explicar a relação entre DM2 e PC. As ROS são essenciais para os processos fisiológicos, mas quando o hospedeiro, através de seu sistema antioxidante, não é capaz de neutralizar eficientemente os danos resultantes dos ROS, este processo

pode ser uma das causas da destruição tecidual. A PC pode estar associada a uma condição de estresse oxidativo sistêmico e de reduzida capacidade antioxidante, e a destruição dos tecidos de suporte podem ser consequência da ação conjunta da ROS e de bactérias específicas, associadas a fatores predisponentes (Bullon et al., 2014). As ROS desempenham um papel importante na patogênese da DM2. Sugere-se que o estresse oxidativo inativa o sistema de ligação entre o receptor de insulina e a glicose, podendo atuar como fator subjacente que leva ao aparecimento e progressão da resistência à insulina (Martelli, Nunes, 2016).

Nos tecidos e no sistema circulatório, as ROS se aderem a outras moléculas, modificando-as e gerando espécies oxidadas (Martelli, Nunes, 2016). O LDL é um dos principais alvos da oxidação. A interação entre LDL e ROS gera moléculas de oxLDL. A molécula de oxLDL é considerada fator essencial na iniciação e progressão da aterosclerose (Tamaki et al., 2015).

A aterosclerose (AT) é uma doença progressiva, crônico-inflamatória sistêmica que acomete a camada íntima de artérias de grande e médio calibre (Bullon et al., 2014). As lesões de aterosclerose começam com a deposição de LDL na camada íntima da artéria afetada, permitindo o acúmulo de monócitos e linfócitos no endotélio vascular, devido ao processo inflamatório (Dhadse et al., 2015).

O endotélio desempenha um importante papel na homeostase vascular. A inflamação contínua aumenta a permeabilidade vascular do endotélio, permitindo maior acúmulo de lipoproteínas no interior das artérias e maior adesão de leucócitos. A captação da LDL pelas células endoteliais, através do receptor clássico de LDL, não provoca um acúmulo apreciável de colesterol, porque o receptor está sujeito à inibição pelo conteúdo intracelular de colesterol. No entanto, formas modificadas, acetiladas ou oxidadas de LDL (oxLDL), são captadas através do mecanismo de reconhecimento, por receptores *scavengers* (presente em macrófagos, células endoteliais e células de músculo liso), resultando em substancial acúmulo de colesterol e subsequente formação de células espumosas, uma vez que o receptor *scavenger* não é regulado pelo conteúdo intracelular de colesterol (Rösen et al., 2001; Bullon et al., 2014).

Em lesões periodontais, a excessiva produção de ROS é resultado da resposta inflamatória, o que pode induzir a formação de oxLDL no sangue (Monteiro et al., 2009; Tamaki et al., 2015). Estudos demonstram uma relação positiva entre a

intervenção periodontal, realizada através do debridamento periodontal, e a diminuição dos índices séricos de oxLDL (Monteiro et al., 2009; Caúla et al., 2014; Tamaki et al., 2015). Monteiro et al., 2013, demonstraram que o tratamento periodontal foi capaz de provocar alterações nos níveis séricos de marcadores inflamatórios, inclusive oxLDL. Indivíduos portadores de DM2 e de PC apresentam níveis séricos de oxLDL que indicam uma condição inflamatória, além de reportar um risco para aterosclerose. No entanto, na literatura atual ainda não está esclarecido se estas alterações dos marcadores inflamatórios e a diminuição da oxLDL, decorrentes do tratamento periodontal, ocorrem em pacientes portadores de DM2. Portanto, o objetivo do presente estudo foi estabelecer quais os níveis de oxLDL de pacientes portadores de DM2, com ou sem periodontite crônica generalizada, e qual a influência do tratamento periodontal na diminuição da oxLDL e no nível de glicemia destes pacientes.

## **2 PROPOSIÇÃO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose em pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2, com e sem periodontite crônica.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia do presente estudo segue as normas do novo CONSORT-STATEMENT de 2010 (Moher et al., 2010) para ensaios clínicos. O presente estudo foi submetido ao Comitê de ética de pesquisa em humanos e aprovado sob o número 1.504.963, e registrado no *clinicaltrials.gov* sob número 53785516.6.0000.0077.

#### 3.1 Amostra

A população foi constituída de 24 pacientes diabéticos e portadores de periodontite crônica generalizada e 24 pacientes diabéticos sem periodontite crônica. Esses pacientes foram provenientes do Instituto de Ciência e Tecnologia – UNESP, curso de Odontologia em São José dos Campos - SP.

Para este estudo, foi incluída uma população de 48 pacientes que obedeceram aos critérios pré-estabelecidos (inclusão e exclusão). Considerando um intervalo de confiança de 95% e um erro tipo  $\beta$  de 20% (power de 80%) para detectar uma diferença de 0,12 unidades de oxLDL entre os grupos, para um desvio padrão de 0,14 de estudo anterior Monteiro et al, 2009, 24 pacientes eram necessários em cada grupo. Com uma amostra de 24 pacientes por grupo, o estudo teve um poder de 80%.

##### 3.1.1 Critérios de Inclusão

- a) indivíduos acima de 35 anos portadores de DM2 diagnosticada há mais de cinco anos e com os níveis de HbA1c controlados;
- b) Ser diagnosticado com periodontite crônica generalizada: apresentar perda de inserção clínica interproximal >3mm em 2 dentes não adjacentes

e perda de inserção clínica interproximal  $\geq 5\text{mm}$ , em 30% ou mais dos dentes presentes (Tonetti & Claffey, 2005).

- c) apresentar no mínimo 20 dentes;
- d) concordar em participar do estudo e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Resolução CNS 466/12 e o Código de Ética Profissional Odontológico – C.F.O. - 179/93).

### **3.1.2 Critérios de Exclusão**

- a) pacientes com histórico de hipertensão ou de nefropatias;
- b) pacientes portadores de câncer, distúrbios gastrointestinais, doenças de pele, gravidez, lactação, tabagismo, artrite, lúpus;
- c) ter passado por tratamento periodontal nos últimos 12 meses;
- d) ter feito uso de suplementos antioxidantes, anti-inflamatórios, ou antibióticos no prazo de 3 meses anteriores;
- e) ter alterado a medicação para controle da glicemia nos últimos 3 meses;
- f) apresentar elementos dentários com inflamação pulpar ou periapical;
- g) apresentar quaisquer outras doenças de origem inflamatória.

### **3.2 Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo do tipo clínico, controlado, prospectivo com acompanhamento de 6 meses.



### **3.2.1 Terapia periodontal inicial**

Todos os pacientes foram instruídos sobre a relação da Doença Periodontal e a Diabetes Mellitus bem como sobre técnicas de prevenção relacionados com a escovação e controle do biofilme. Os fatores de retenção de biofilme (cavidades de cárie, excesso de restaurações e cálculo supragengival) foram removidos nas visitas iniciais. Após a terapia inicial, foram coletados os parâmetros clínicos do baseline.

### **3.2.2 Tratamento periodontal**

Os pacientes do grupo teste (diabéticos com doença periodontal) receberam tratamento periodontal não cirúrgico e manutenção a cada três meses. Os pacientes do grupo controle (diabéticos sem doença periodontal) receberam profilaxia e manutenção a cada três meses.

O tratamento periodontal não cirúrgico foi realizado por meio de debridamento periodontal em sessão única de 1h, até obtenção de lisura radicular. Nesta sessão, os pacientes foram anestesiados e receberam raspagem e alisamento radicular com equipamento de ultrassom (Prof Neo, Dabi Atlante-BR) com pontas específicas (Dabi Atlante Tip Perio Sub- EVMWQHED3). Todos os sítios que apresentavam doença periodontal foram instrumentados nesta sessão. Esta sessão de debridamento foi realizada por um operador treinado.

### **3.2.3 Medidas clínicas periodontais**

As avaliações clínicas periodontais foram realizadas previamente ao tratamento (baseline) e seis meses após. Os seguintes parâmetros foram avaliados:

- a) índice de placa – IP (Ainamo & Bay, 1975): Avaliação de presença e

ausência de placa num padrão dicotômico. 0 – ausência de placa visível; 1 – presença de placa visível.

- b) índice de sangramento gengival – IG (Ainamo & Bay, 1975): Avaliação da presença e ausência de sangramento na margem gengival num padrão dicotômico na boca toda e no dente incluído no estudo. 0 – ausência de sangramento; 1 – presença de sangramento;
- c) profundidade de Sondagem – PS, Distância em milímetros da margem gengival livre à base, clinicamente detectável, da bolsa, realizada em 4 sítios por dente;
- d) nível de inserção clínico – NIC, Somatória entre Recessão Gengival (RG) e PS. Recessão gengival (RG) Distância em milímetros da margem gengival livre a junção esmalte-cimento, no meio da face vestibular, realizada em 4 sítios por dente.

As medidas clínicas foram realizadas com sonda periodontal padronizada 15 mm – University North Carolina – UNC® (Hu-Friedy, Jacarepaguá - Rio de Janeiro).

### **3.3 Análises laboratoriais**

#### **3.3.1 Coleta de sangue**

Após a anamnese e coleta das medidas clínicas, todos os pacientes foram encaminhados ao laboratório de análises clínicas para realizar a coleta de sangue inicial. Foram realizadas as seguintes análises no laboratório de análises clínicas: hemograma completo, glicemia em jejum, PCR-us e HbA1c. Neste mesmo local foram coletados 3 tubos de sangue que foram congelados e encaminhados para o Instituto de Física da USP para análises de: oxLDL, LDL, HDL, triacilglicerol e colesterol total. Seis meses após o término do tratamento, uma nova coleta de sangue foi realizada. Para as coletas de sangue, os pacientes se apresentaram com jejum de 12 h. Os laboratórios ficaram cegados em relação aos pacientes

pertencentes a cada grupo de estudo.

### **3.3.2 Preparação da LDL**

Ao plasma coletado dos participantes foram adicionados os seguintes preservantes: 2mM benzamidina, 0,5% de gentamicina, 0,25% cloranfenicol, 0,5 mfenilmetilsulfonilflúor (PMSF), e 0,1 unit/mL de aprotinina. A fração de LDL foi obtida por ultracentrifugação sequencial (Havelet al., 1955) utilizando-se 75 Ti rotor (Hitachi Centrifuge), a 4 °C, 100.000 x g. Inicialmente o plasma foi centrifugado durante 20 horas para obtenção da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL - densidade = 1,006 g/mL). Após esse período a densidade do infranadante foi acertada para 1,063 g/mL com adição de brometo de potássio (KBr) e, em seguida centrifugado durante 20 h. 100.000 x g, a 4 °C, para obtenção da LDL (densidade <1,063 g/mL). A LDL presente no sobrenadante foi retirada e dialisada por 24 horas em solução PBS – tampão fosfato (NaCl 0,9%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2%, NaOH 0,38% e EDTA 0,001% pH =7,4) a 4 °C e ao abrigo da luz. Após este processo a LDL foi filtrada com filtro de 0,22 µm de diâmetro (Millipore). As proteínas foram quantificadas utilizando-se o Kit BCA (PIERCE) de acordo com as instruções do fabricante.

### **3.3.3 Oxidação da LDL**

A LDL foi obtida de um pool de indivíduos normolipidêmicos e sem doença periodontal e DM2 em jejum de 12 h para a sensibilização de placas de 96 poços para detecção de auto-anticorpos para oxLDL. Para obtenção da oxLDL, a LDL foi dialisada em PBS por 24 h a 4 °C, para retirada do EDTA. Em seguida a LDL foi incubada com CuSO<sub>4</sub> 20 µM, por 18h a 37 °C, como padronizado em nosso

laboratório. Após este período, a oxidação foi bloqueada pela adição de EDTA 1mM ao meio contendo LDL com cobre.

### **3.3.4 Dosagem de HDL, triacilglicerol e colesterol total**

O conteúdo de colesterol total, HDL e de TG (triacilglicerol) foi determinado por métodos enzimáticos colorimétricos (Liquiform, LabTest-Diagnóstica, Brasil) utilizando as informações do fabricante. As frações de LDL foram calculadas conforme a fórmula de Friedewald ( $LDL = CHOL - HDL - TG/5$ ) (Friedewald et al., 1972). Para identificar indivíduos com concentrações anormais, os seguintes valores foram usados de acordo com a recomendação do fabricante: Colesterol Total  $\geq 200$ mg/dL, LDL  $\geq 130$  mg/dL, TG  $\geq 150$  mg/dL e HDL  $< 40$  mg/dL.

### **3.3.5 Detecção de anticorpos contra oxLDL**

Para dosagem de auto-anticorpos contra oxLDL, foi utilizado o método ELISA padronizado em nosso laboratório (Fernvik et al., 2004). Placas de 96 poços (Costar, EUA) foram sensibilizadas com 50  $\mu$ L, na concentração de 7,5  $\mu$ g/mL de oxLDL em tampão carbonato de sódio, 0,1 M, pH 9,4, durante 18 h, a 4 °C. Após 4 ciclos de lavagens com 100  $\mu$ L de PBS, as placas foram bloqueadas com solução de gelatina a 1,0% (Gibco, EUA), em temperatura ambiente, por 24 h. Em sequência, as placas foram lavadas 4 vezes com PBS e os poços receberam, em triplicata, 50  $\mu$ L das amostras dos diferentes grupos, diluídas 1:400 em PBS. Após 2 h de incubação, as placas foram lavadas 4 vezes com 100  $\mu$ L de PBS-T e incubadas com 50  $\mu$ L de conjugado com peroxidase, por 1h, em temperatura ambiente. Foi utilizado como conjugado imunoglobulina (Ig) G de cabra anti-IgG humana marcada com peroxidase (KLP, EUA) na diluição 1:1000. Posteriormente a mais 4 ciclos de lavagem, com PBS-T, o processo de revelação foi realizado com a adição, em cada poço, de 75  $\mu$ L de solução de TMB (250  $\mu$ L de 3,3'5,5'-tetrametilbenzidina 6,5% em

DMSO, 12 mL de tampão citrato 0,1M, pH 5,5 e 10  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). A reação foi interrompida com a adição de 25  $\mu$ L de ácido sulfúrico 2M (Merck, Alemanha). Os resultados foram obtidos por leitura espectrofotométrica a 450 nm em leitor de ELISA (GeniosTecan, Austria).

### 3.3.6 Análises física através de Z-scan

Quando um feixe de luz ilumina um meio não transparente, um processo de absorção da radiação ocorre em milissegundos e que, converte a luz absorvida em calor. O índice de refração depende, entre outros fatores, da temperatura. Um aumento ( $\Delta T$ ) da temperatura induz uma mudança  $\Delta n = (dn/dT) \Delta T$  no índice de refração (Gomez et al., 2004), em que o parâmetro  $dn/dT$  é o coeficiente termo-óptico. Nesta estrutura, um feixe com uma configuração Gaussiana induz a uma lente térmica no meio. As características desta lente dependem do meio, particularmente da condutividade térmica e do coeficiente térmico. Nesta técnica, um feixe Gaussiano polarizado é focado em um centro estreito por uma lente e a amostra é movimentada através do ponto focal. A transmitância da íris, centralizada no eixo z (eixo que propaga o feixe de laser) neste campo, é medido como uma função da posição da amostra ao longo do eixo z. Na aproximação parabólica da lente térmica induzida, a amplitude do sinal de z-scan é dada pelo parâmetro descrito na fórmula abaixo:

$$\Theta = \frac{2.303 P}{\lambda} \left( - \frac{dn}{dT} \right) \frac{\alpha}{\kappa}$$

Onde,  $\alpha$  é o coeficiente óptico de absorção linear ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $\lambda$  é o comprimento do laser (nm),  $\kappa$  é a condutividade térmica ( $\text{cal s}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{K}^{-1}$ ) e  $P$  a força de incidência do feixe de laser.

### **3.4 Análise estatística**

Os dados foram consolidados e disponibilizados em média  $\pm$  desvio padrão, expressas em percentuais. A avaliação de normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-wilk. Os valores das concentrações dos biomarcadores e oxLDL foram comparados inter e intragrupo por teste de variância de medidas repetidas: Wilcoxon ( $p \leq 0,05$ ).

## **4 RESULTADO**

### **4.1 Dados demográficos**

Para este estudo clínico, inicialmente, foram triados 356 pacientes diabéticos, dos quais 48 se inseriam nos critérios pré-estabelecidos. Os participantes foram divididos em 2 grupos: Teste (n=24) e Controle (n=24). Todos os pacientes permaneceram até o término do estudo.

Os pacientes do grupo teste apresentaram idade média de 57,62 anos, sendo 12 do gênero feminino e 12 do gênero masculino. Os indivíduos do grupo controle tinham idade média de 56,25 anos, sendo 12 do gênero feminino e 12, do masculino.

### **4.2 Parâmetros clínicos periodontais**

Os parâmetros clínicos periodontais avaliados foram: IG, IP, PS, NIC e RG. Os pacientes do grupo teste apresentaram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) nos índices clínicos, exceto para RG, após a terapia periodontal. Já os pacientes do grupo controle apresentaram diminuição nos IP e IG após o período de 6 meses, sem alterações significativas nos PS, NIC e RG, como exibido na tabela 1. Já na comparação entre os grupos, tanto em T=0 como em T=6, apenas o IP foi semelhante entre os pacientes com e sem periodontite. IG, PS, NIC e RG foram estatisticamente diferentes entre os grupos no decorrer do estudo, conforme tabela 2.

Tabela 1 – Comparação intragrupo dos parâmetros clínicos periodontais

Parâmetros	Teste			Controle		
	T=0	T=6	P-value	T=0	T=6	P-value
IG	62%±18%	22%±10%	<b>1,94<sup>-5</sup></b>	24%±14%	11%±8%	<b>1,11<sup>-4</sup></b>
IP	81%±16%	52%±20%	<b>2,14<sup>-4</sup></b>	77%±14%	43%±21%	<b>6,72<sup>-5</sup></b>
PS	3,3±0,79	2,52±0,27	<b>2,84<sup>-5</sup></b>	2,20±0,24	2,12±0,21	0,15
NIC	3,85±0,94	3,05±0,48	<b>2,87<sup>-5</sup></b>	2,49±0,50	2,42±0,43	0,20
RG	0,54±0,34	0,55±0,34	1	0,29±0,39	0,29±0,39	NA

Fonte: Elaborada pelo autor. Legenda: Índice Gengival (IG), Índice de Placa (IP), Profundidade de Sondagem (PS), Nível Clínico de Inserção (NIC), Recessão Gengival (RG).

Tabela 2 - Comparação entre os grupos dos parâmetros clínicos periodontais

Parâmetros	Baseline			T=6		
	Teste	Controle	P-value	Teste	Controle	P-value
IG	62%±18%	24%±14%	<b>1,21<sup>-7</sup></b>	22%±10%	11%±8%	<b>2,67<sup>-4</sup></b>
IP	81%±16%	77%±14%	0,15	52%±20%	43%±21%	0,13
OS	3,3±0,79	2,20±0,24	<b>3,63<sup>-9</sup></b>	2,52±0,27	2,12±0,21	<b>7,19<sup>-6</sup></b>
NIC	3,85±0,94	2,49±0,50	<b>8,97<sup>-8</sup></b>	3,05±0,48	2,42±0,43	<b>5,34<sup>-5</sup></b>
RG	0,54±0,34	0,29±0,39	1	0,55±0,34	0,29±0,39	<b>4,40<sup>-3</sup></b>

Fonte: Elaborada pelo autor. Legenda: Índice Gengival (IG), Índice de Placa (IP), Profundidade de Sondagem (PS), Nível Clínico de Inserção (NIC), Recessão Gengival (RG).

#### 4.3 Parâmetros lipídicos

Foram analisados CT, TG, HDL e LDL. Tanto no grupo teste como no controle, não houve diferenças significativas entre o baseline e o T=6, ou seja, após o tratamento não houve diminuição dos índices lipídicos. Na comparação entre os grupos, no T=0, CT foi significativamente menor no grupo controle. TG, HDL e LDL mostraram-se semelhantes entre os grupos, no baseline e no T=6. Para ambos os grupos não houve diferença significativa, na comparação entre o tempo, para oxLDL (Tabelas 3 e 4).



#### 4.4 Parâmetros inflamatórios

Os resultados das taxas de leucócitos, neutrófilos e PCR-us se encontram nas tabelas 3 e 4. As taxas de PCR-us diminuíram significativamente no grupo teste após 6 meses. No grupo controle, os leucócitos mostraram uma diminuição significativa e os neutrófilos tenderam à diminuição. Na comparação entre os grupos, tanto no baseline quanto no T=6, os dados foram semelhantes.

#### 4.5 Parâmetros glicêmicos

Conforme tabelas 3 e 4, foram avaliados HbA1c e glicose em jejum. No grupo teste, houve uma redução significativa nos índices de HbA1c entre o baseline e T=6, e não houve alterações significativas na glicose. No grupo controle, HbA1c e glicose se mantiveram estáveis após 6 meses. Na comparação entre os grupos, a HbA1c foi estatisticamente inferior nos pacientes do grupo controle.

Tabela 3 – Comparação intragrupo dos parâmetros séricos

	DM2 com PC			DM2 sem PC		
	T=0	T=6	P-value	T=0	T=6	P-value
oxLDL	1,66±0,59	1,69±0,58	0.72	1,93±0,81	1,86±0,81	0.89
Colesterol	219,70±34,55	220,00±39,97	0.93	197,87±29,92	196,25±31,75	0.67
TG	204,25±64,51	216,29±70,29	0.29	172,87±60,72	184,16±57,15	0.42
LDL	114,83±41,68	118,12±41,96	0.65	101,54±33,05	99,70±34,82	0.81
HDL	64,0±18,18	58,54±17,10	0.08	61,91±16,61	59,75±14,84	0.49
Glicose	172,67±63,32	182,66±71,42	0.72	151,07±60,29	133,75±46,53	0.06

Hb1c	9,41±1,73	8,72±1,48	<b>2,5<sup>3</sup></b>	7,81±1,45	7,41±1,73	0.06
PCR-us	6,95±11,11	4,42±4,74	0.05	4,01±3,76	3,82±3,49	0.80
Leucocitos	7812,50±2152,91	7231,66±1858,25	0.08	7520,83±1826,61	6912,50±1507,46	<b>2,967<sup>2</sup></b>
Neutrofilos	4889,95±1619,74	4480,87±1318,60	0.96	4678,75±1480,60	4158,45±1216,78	0.44

Fonte: Elaborado pela autor. Legenda: LDL oxidada (ox-LDL), Triacilglicerol (TG), Lipoproteína de baixa densidade (LDL), Lipoproteína de alta densidade (HDL), Hemoglobina glicada (HbA1c), Proteína C Reativa (PCR-us).

Tabela 4 – Comparação entre os grupos dos parâmetros séricos

	T=0			T=6		
	Teste	Controle	P-value	Teste	Controle	P-value
oxLDL	1,66±0,59	1,93±0,81	0.2567	1,69±0,58	1,86±0,81	0.7649
Colesterol	219,70±34,55	197,87±29,92	<b>0.02661</b>	220,0±39,97	196,25±31,75	0.06055
TG	204,25±64,51	172,87±60,72	0.08885	216,29±70,29	184,16±57,15	0.08133
LDL	114,83±41,68	101,54±33,05	0.2976	118,12±41,96	99,70±34,82	0.1195
HDL	64,0±18,18	61,91±16,61	0.606	58,54±17,10	59,75±14,84	0.7335
Glicose	172,67±63,32	151,07±60,29	0.1765	182,66±71,42	133,75±46,53	<b>0.006902</b>
Hb1c	9,41±1,73	7,81±1,45	<b>0.003178</b>	8,72±1,48	7,41±1,73	<b>0.003072</b>
PCR-us	6,95±11,11	4,01±3,76	0.543	4,42±4,74	3,82±3,49	0.9425
Leucócitos	7812,50±2152,91	7520,83±1826,61	0.6648	7231,66±1858,25	6912,50±1507,46	0.5429
Neutrófilos	4889,95±1619,74	4678,75±1480,60	0.6207	4480,87±1318,60	4158,45±1216,78	0.1518

Fonte: Elaborado pela autor. Legenda: LDL oxidada (ox-LDL), Triacilglicerol (TG), Lipoproteína de baixa densidade (LDL), Lipoproteína de alta densidade (HDL), Hemoglobina glicada (HbA1c), Proteína C Reativa (PCR-us).

## 5 DISCUSSÃO

Uma associação entre a doença periodontal e o DM2, tem sido amplamente demonstrada na literatura, onde pacientes portadores de diabetes são mais propensos a desenvolver periodontite, e por sua vez, a infecção periodontal dificulta o controle glicêmico. A terapia periodontal pode diminuir a carga bacteriana promovendo um efeito positivo no estado inflamatório local e sistêmico e em pacientes com DM2 (Chen et al., 2012). O tratamento periodontal também promove mudanças em marcadores séricos, incluindo lipídios, HBA1c, glicose, PCR-us e leucócitos (Monteiro et al., 2013).

O presente estudo analisou a influência do debridamento periodontal em parâmetros clínicos e sistêmicos, especificamente na oxLDL e no controle glicêmico de pacientes diabéticos.

No grupo teste, os resultados revelaram que o tratamento realizado promoveu ganho de inserção e diminuição da inflamação periodontal (PS, NIC, IP e IG), exceto a RG não teve alterações significativas. Já o grupo controle, o tratamento periodontal promoveu diminuição de IP e IG, mantendo-se constantes PS, NIC e RG. Estes resultados corroboram com os achados de várias pesquisas envolvendo pacientes diabéticos (Sun et al., 2010; Sun et al., 2011; Chen et al., 2012; Caúla et al., 2014; Mohan et al., 2014; Artese et al., 2014; Acharya et al., 2015).

Caúla et al. (2014), observou diferença nos parâmetros clínicos aos 2 meses enquanto os estudos de Mohan et al. (2014), Sun et al. (2010), Sun et al. (2011) notaram esta diferença aos 3 meses.

O presente trabalho mostra que houve melhora após 6 meses de acompanhamento, confirmando os resultados de Acharya et al., 2015, Artese et al., 2014 e Chen et al., 2012. Artese et al., 2014, avaliaram a resposta clínica periodontal e sistêmica de pacientes com DM2 e com periodontite crônica, sendo que um grupo foi tratado com terapia intensa, ou seja, raspagem supragengival e subgengival, apresentando melhoras em IP, IG, PS, NIC e sangramento a sondagem; e o outro grupo que recebeu apenas raspagem supragengival também exibiu melhoras clínicas significativas, exceto no NIC. Observaram, portanto que, o controle de placa supragengival tem um efeito modesto para a periodontite e um

efeito limitado nos marcadores inflamatórios sistêmicos, em comparação com a terapia intensiva. Assim, o tratamento periodontal envolvendo raspagem subgingival deve ser priorizado para controlar a carga inflamatória em indivíduos com DM2. Apesar disso, Caúla et al., 2014 não verificaram diminuição de NIC após terapia subgingival em portadores de DM2. Pacientes portadores de DM2 apresentam hiperglicemia, geralmente associada a quadros de hiperlipidemia, as quais estão intimamente envolvidas com as complicações diabéticas (Sgolastra et al., 2012). Concentrações elevadas de TG, TC, LDL e baixos níveis de HDL aceleram o desenvolvimento da aterosclerose (Górski et al., 2016). Além disso, baixos níveis de HDL e altos níveis de LDL estão associados ao desenvolvimento da periodontite (Lee et al., 2017). O tratamento periodontal não cirúrgico pode ser efetivo na redução dos níveis lipídicos em pacientes com periodontite crônica (Caúla et al., 2014). Os resultados encontrados neste estudo mostraram que não houve melhora nos teores lipídicos após a terapia, corroborando com Chen et al., 2012, mas contradizendo os estudos de Sun et al., 2011 e Caúla et al., 2014. Monteiro et al. (2013) demonstraram que apenas os índices de TG diminuíram. Uma meta-análise realizada por Sgolastra et al., 2012 afirma que os estudos são controversos quanto a efetividade do debridamento periodontal em melhorar os níveis lipídicos.

As disfunções metabólicas que originam a DM2 estão associadas a alterações no sistema imunológico, que incluem modificações na produção de citocinas, originando um quadro inflamatório, inicialmente, no tecido adiposo. Os adipócitos são estimulados a liberar adipocinas, citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF-alfa, as quais regulam a liberação da PCR-us pelo fígado (Pradham et al., 2001; Morettini et al., 2015). Desta forma, o nível de PCR-us plasmática indica a condição inflamatória sistêmica do paciente.

No presente estudo, os resultados revelaram que os índices de PCR-us sofreram uma redução significativa após 6 meses no grupo teste. Este achado parece indicar que, nas condições deste estudo, a periodontite crônica pode ter gerado maior interferência na condição inflamatória sistêmica do paciente em comparação com a DM2, corroborando com outros estudos que encontraram reduções significativas na PCR-us após 3 ou 6 meses do término da terapia periodontal (Chen et al., 2012; Monteiro et al., 2013; Mohan et al., 2014). Já o trabalho de Mohan et al., 2014 mostrou que os níveis de PCR-us foram mais altos

em pacientes com DM2 e PC do que em pacientes sem DM e com PC, mostrando a influência da DM2 sobre a carga inflamatória geral do paciente.

O DM2 estimula a resposta imunológica inata, a qual ocorre através da ação de neutrófilos e monócitos, com aumento acentuado na produção de citocinas pró-inflamatórias, gerando estresse oxidativo. Estes mediadores da resposta do hospedeiro, por sua vez, promovem um estado inflamatório sistêmico, o qual dificulta o controle glicêmico em pacientes com DM2. O tratamento da doença periodontal pode interromper este ciclo de produção exacerbada de citocinas inflamatórias (Silva-Boghossian et al., 2014). Nossos resultados revelaram que nos pacientes do grupo teste não houve alterações significativas na quantidade de células imunológicas após a terapia periodontal, mas os leucócitos mostraram uma diminuição significativa e os neutrófilos tenderam a diminuição. Quando comparados os pacientes com e sem periodontite, não houve diferenças entre os grupos. Mohan et al., 2014, demonstraram que após 1 e 3 meses do tratamento periodontal houve redução dos níveis de leucócitos, neutrófilos e linfócitos em pacientes com periodontite crônica, diabéticos ou não. Monteiro et al., 2013 observaram reduções significativas de leucócitos e neutrófilos após 12 meses do tratamento periodontal, porém em pacientes sem DM2.

O tratamento periodontal pode melhorar o controle glicêmico e a resistência à insulina, através da redução de citocinas pró-inflamatórias e aumento dos níveis de adiponectina (citocina anti-inflamatória produzida pelos adipócitos) em pacientes com DM2 (Sun et al., 2011), como demonstram vários estudos (Darré et al., 2008; Katagiri et al., 2009; Sun et al., 2010; Bascones-Martinez et al., 2011; Chen et al., 2012; Salman et al., 2016).

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com a literatura supracitada, pois após o tratamento periodontal, os pacientes com periodontite crônica exibiram níveis de HbA1c significativamente inferiores quando comparados ao baseline. Goel et al., 2017 e Mizuno et al., 2017 encontraram resultados controversos, pois o debridamento periodontal não foi capaz de melhorar as taxas glicêmicas.

A DM2 é considerada um fator de risco para doenças periodontais e a prevalência de periodontite em portadores de DM2 chega a mais de 60%, e pode ser o resultado clínico da resposta imunológica contra o processo infeccioso em

pacientes com pobre controle glicêmico (Bascones-Martinez et al., 2011). O controle da glicose está associado com aumento dos níveis séricos de adiponectina e diminuição de citocinas anti-inflamatórias (Sun et al., 2010). Assim, o controle da doença periodontal pode melhorar os parâmetros glicêmicos em pacientes com DM2, e por sua vez, a melhora no controle glicêmico pode ajudar a controlar a doença periodontal (Darré et al., 2008). O padrão glicêmico dos pacientes se manteve inalterado durante o período deste estudo. Observou-se também que as taxas glicêmicas de portadores de PC não sofreram alterações significativas após a terapia periodontal, não confirmando os resultados de Acharya et al. (2015). Estes últimos estudos demonstraram que o debridamento periodontal foi capaz de reduzir os níveis séricos de glicose em pacientes com DM2 e com PC, assim como elevar os níveis de IL-10, um citocina com característica anti-inflamatória.

A hiperglicemia por si só pode aumentar a expressão de macrófagos e monócitos, promovendo a geração de ROS, os quais facilitam a oxidação de LDL (Perales-Torres et al., 2015). De acordo com o estudo de Tamaki et al., 2011, pacientes com periodontite apresentam níveis mais elevados de oxLDL circulante e estresse oxidativo do que indivíduos saudáveis, e o tratamento periodontal não cirúrgico foi efetivo na redução da oxLDL, porém os pacientes não eram diabéticos.

Neste estudo, não houve diferenças significativas nas taxas de oxLDL entre os grupos, e se encontrou diferenças significativas nos níveis de oxLDL após o tratamento periodontal, conflitando com Tamaki et al., 2011 e Monteiro et al., 2013. No entanto, estes estudos não avaliaram pacientes com DM2, podendo-se inferir que, o perfil glicêmico tenha exercido influência sobre este marcador sérico, concordando com os achados de Bastos et al., 2012, que encontraram nos pacientes diabéticos uma maior concentração de oxidação lipídica, indicando que a peroxidação de lipídios está fortemente associada a intensidade da resposta inflamatória e a susceptibilidade a doença periodontal em pacientes diabéticos.

A literatura relata que a dieta associada a prática de exercícios físicos influenciam positivamente no tratamento da DM2. Diminuir o consumo de gorduras saturadas, aumentar o consumo de fibras e fazer exercícios resistidos, alternados com aeróbios, auxiliam no controle glicêmico e lipídico (Molena-Fernandes et al., 2005; Morettini et al., 2015; Perales-Torres et al., 2015).

Ressalta-se que, no presente estudo, os participantes não receberam nenhum tipo de instrução quanto a alterações nos hábitos alimentares e nem foram incentivados a praticar exercícios físicos, fatores que poderiam ter influenciado os resultados. No entanto, alguns aspectos podem ter interferido nos parâmetros séricos avaliados, como pacientes obesos, pacientes insulino-dependentes e a medicação utilizada por cada paciente durante o tempo do estudo.

## 6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos e dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que a terapia periodontal não-cirúrgica promoveu ganho de inserção e diminuição da inflamação dos tecidos periodontais. O debridamento periodontal foi capaz de influenciar os parâmetros glicêmicos e inflamatórios, mas não os parâmetros lipídicos, em pacientes diabéticos. As taxas de HbA1c e de PCR-us mostraram uma diminuição significativa. Os níveis de oxLDL se mantiveram estáveis.



## REFERÊNCIAS\*

Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV. Effect of scaling and root planing on serum interleukin-10 levels and glycemic control in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *J Indian Soc Periodontol*. 2015 Mar-Apr;19(2):188-93. doi: 10.4103/0972-124X.148644.

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

Artese HPC, Longo PL, Gomes GH, Mayer MPA, Romito GA. Supragingival biofilm control and systemic inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Braz Oral Res [online]*. 2015;29(1):1-7. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0071.

Bascones-Martinez A, Matesanz-Perez P, Escribano-Bermejo M, González-Moles MÁ, Bascones-Ilundain J, Meurman JH. Periodontal disease and diabetes- Review of the Literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011 Sep 1;16(6):e722-9. doi:10.4317/medoral.17032.

Brugués A, Bromuri S, Barry M, Del Toro ÓJ, Mazurkiewicz MR, Kardas P, et al. Processing Diabetes Mellitus Composite Events in MAGPIE. *J Med Syst*. 2016 Feb;40(2):44. doi: 10.1007/s10916-015-0377-1.

Bullon P, Newman HN, Battino M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? *Periodontol 2000*. 2014 Feb;64(1):139-53. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00455.x.

Caúla AL, Lira-Junior R, Tinoco EMB, Fischer RG. The effect of periodontal therapy on cardiovascular risk markers: a 6-month randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2014 Sep;41(9):875-82. doi: 10.1111/jcpe.12290.

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. *J Periodontol*. 2012 Apr;83(4):435-43. doi: 10.1902/jop.2011.110327.

Darré L, Vergnes JN, Gourdy P, Sixou M. Efficacy of periodontal treatment on glycaemic control in diabetic patients: A meta-analysis of interventional studies. *Diabetes Metab*. 2008 Nov;34(5):497-506. doi: 10.1016/j.diabet.2008.03.006.

Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontol 2000*. 2013 Feb;61(1):16-53. doi: 10.1111/j.1600-0757.2011.00397.x.

Dhadse P, Gattani D, Mishra R. The link between periodontal disease and cardiovascular disease: how far we have come in last two decades? *J Indian Soc Periodontol*. 2010 Jul;14(3):148-54. doi: 10.4103/0972-124X.75908.

\* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jun 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2011 Feb;11(2):98-107. doi: 10.1038/nri2925. Epub 2011 Jan 14.

Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, et al. Atherosclerosis Risk in Communities Study. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003 Jul;52(7):1799-805. doi: 10.2337/diabetes.52.7.1799.

Goel K, Pradhan S, Bhattarai MD. Effects of nonsurgical periodontal therapy in patients with moderately controlled type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis in Nepalese population. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2017 Jul 17;9:73-80. doi: 10.2147/CCIDE.S138338.

Górski B, Nargiełło E, Opolski G, Ganowicz E, Górska R. The Association Between Dental Status and Systemic Lipid Profile and Inflammatory Mediators in Patients After Myocardial Infarction. *Adv Clin Exp Med*. 2016 Jul-Aug;25(4):625-30. doi: 10.17219/acem/62937.

Halliwell B. Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*. 1995 May 17;49(10):1341-8.

Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):860-7. doi: 10.1038/nature05485.

Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Uchimura I, Izumiyama H, Inagaki K, et al. Multi-center intervention study on glycohemoglobin (HbA1c) and serum, high-sensitivity CRP (hs-CRP) after local anti-infectious periodontal treatment in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009 Mar; 83(3):308-15. doi: 10.1016/j.diabres.2008.10.016.

Kolb H, Mandrup-Poulsen T. An immune origin of type 2 diabetes? *Diabetologia*. 2005 Jun;48(6):1038-50. doi: 10.1007/s00125-005-1764-9. Erratum in *Diabetologia*. 2005 Aug;48(8):1677.

Mizuno H, Ekuni D, Maruyama T, Kataoka K, Yoneda T, Fukuhara D, et al. The effects of non-surgical periodontal treatment on glycemic control, oxidative stress balance and quality of life in patients with type 2 diabetes: A randomized clinical trial. *PLoS One*. 2017 Nov 16;12(11):e0188171. doi: 10.1371/journal.pone.0188171. eCollection 2017.

Mohan M, Jhingran R, Bains VK, Gupta V, Madan R, Rizvi I, et al. Impact of scaling and root planing on C-reactive protein levels in gingival crevicular fluid and serum in chronic periodontitis patients with or without diabetes mellitus. *J Periodontal Implant Sci*. 2014 Aug;44(4):158-68. doi: 10.5051/jpis.2014.44.4.158. Epub 2014 Aug 28.

Molena-Fernandes CA, Nardo Junior N, Tasca RS, Pelloso SM, Cuman RKN. A importância da associação de dieta e de atividade física na prevenção e controle do

Diabetes mellitus tipo 2. *Acta Sci Health Sci.* 2005;27(2):195-205. doi: 10.4025/actascihealthsci.v27i2.1427.

Monteiro AM, Jardini MAN, Alves S, Giampaoli AECQ, Figueiredo Neto AM, Gidlund M. Measurement of the nonlinear optical response of low-density lipoprotein solutions from patients with periodontitis before and after periodontal treatment: evaluation of cardiovascular risk markers. *J Biomed Opt.* 2012 Nov;17(11):115004.

Monteiro AM, Jardini MAN, Alves S, Giampaoli AECQ, Figueiredo Neto AM, Gidlund M. Cardiovascular Disease Parameters in Periodontitis. *J Periodontol.* 2009 Mar;80(3):378-88. doi: 10.1902/jop.2009.080431.

Morettini M, Storm F, Sacchetti M, Cappozzo A, Mazzà C. Effects of walking on low-grade inflammation and their implications for Type 2 Diabetes. *Prev Med Rep.* 2015 Jun 16;2:538-47. doi: 10.1016/j.pmedr.2015.06.012. eCollection 2015.

Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000.* 1997 Jun;14:216-48.

Perales-Torres AL, Castillo-Ruíz O, Castañeda Licón MT, Alemán-Castillo SE, Jiménez Andrade JM. Diabetes and type of diet as determinant factor in the progression of atherosclerosis. *Arch Cardiol Mex.* 2016 Oct - Dec;86(4):326-34. doi: 10.1016/j.acmx.2015.12.003. Epub 2016 Jan 14.

Pinson M, Hoffman WH, Garnick JJ, Litaker MS. Periodontal disease and type I diabetes mellitus in children and adolescents. *J Clin Periodontol.* 1995 Feb;22(2):118-23.

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001 Jul 18;286(3):327-34. doi: 10.1001/jama.286.3.327.

Rösen P, Nawroth PP, King G, Möller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001 May-Jun;17(3):189-212. doi: 10.1002/dmrr.196.

Salman S, Khan K, Salman F, Hameed M. Effect of non-surgical periodontal treatment on Glycemic control among type 2 diabetes mellitus Patients with periodontitis. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2016 Oct-Dec;28(4):442-445.

Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet.* 1999 May 15;353(9165):1649-52.

Lee S, Im A, Burm E, Ha M. Association Between Periodontitis With Blood Lipid Levels in Korean Population. *J Periodontol*. 2017 Sep 5:1-10. doi: 10.1902/jop.2017.170111. [Epub ahead of print]

Sgolastra F, Severino M, Pietropaoli D, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of periodontal treatment to improve metabolic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Periodontol*. 2013 Jul;84(7):958-73. doi: 10.1902/jop.2012.120377. Epub 2012 Oct 29.

Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Jan;87(1):4-14. doi: 10.1016/j.diabres.2009.10.007. Epub 2009 Nov 6.

Silva-Boghossian CM, Orrico SR, Gonçalves D, Correa FO, Colombo AP. Microbiological changes after periodontal therapy in diabetic patients with inadequate metabolic control. *Braz Oral Res*. 2014;28. pii: S1806-83242014000100222. Epub 2014 May 16.

Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Ann Periodontol*. 2001 Dec;6(1):91-8. doi: 10.1902/annals.2001.6.1.91.

Srirangarajan S, Setty R, Satyanarayan A, Shetty S. Effect of full-mouth disinfection on insulin sensitivity in type 2 diabetes patients with and without chronic periodontitis. *Quintessence Int*. 2016 Feb;47(2):103-12. doi: 10.3290/j.qi.a34811.

Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Ren YZ, Qin GM. Changes of adiponectin and inflammatory cytokines after periodontal intervention in type 2 diabetes patients with periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2010 Dec;55(12):970-4. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.08.001.

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. Epub 2011 Aug 1.

Tamaki N, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R, Morita M. Periodontal treatment decreases plasma oxidized LDL level and oxidative stress. *Clin Oral Investig*. 2011 Dec;15(6):953-8. doi: 10.1007/s00784-010-0458-y. Epub 2010 Aug 18.

Tonetti MS, Claffey N; European Workshop in Periodontology group C. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:210-3.

**APÊNDICE A** – Artigo preparado para publicação no Periódico Journal Of Clinical Periodontology

**Title Page**

Disease periodontal influence on markers of cardiovascular in Diabetes Mellitus patients.

Keywords: Periodontal disease. Diabetes Mellitus type 2. Z-scan. Atherosclerosis.

Corresponding author:

Juliana de Fátima Pedroso

Av. José Longo, 777 – Jardim São Dimas SJCampos –SP

51 (12) 39479000

[juliana.pedroso@ict.unesp.br](mailto:juliana.pedroso@ict.unesp.br)

## Clinical Relevance

This clinical study shows the importance of serum parameters for the treatment of chronic periodontitis in diabetic patients.

## Abstract

The objective of the present study was to establish if individuals with DM with or without generalized chronic periodontitis presented an increase in oxLDL and what is the influence of periodontal treatment on the decrease of oxLDL with consequent improvement in the parameters of Diabetes Mellitus. 48 patients were divided into 2 groups: DM2PC (diabetic patients with chronic periodontitis) and DM2 without CP (diabetic patients without chronic periodontitis). The DM2PC group was treated with periodontal debridement and the DM2 group without PC received supragingival prophylaxis. Both groups received plaque control every 3 months. Periodontal clinical parameters and blood collection were evaluated for serum inflammatory markers. Biochemical analyzes were performed using the Z-scan technique. Periodontal parameters showed significant improvement ( $p < 0.05$ ), except for gingival recession. CT showed a lower index in the DM2 group without CP. Rates of hs-CRP remained stable, and HbA1c decreased significantly in the DM2PC group. Periodontal therapy promotes improvements in periodontal clinical parameters and glycemic control in patients with DM2 and periodontitis, but does not interfere with oxLDL levels.

## Introduction

Chronic Periodontitis (PC) is an infection of bacterial origin, characterized by a destructive inflammatory process, due to the action of bacteria and their products. Its manifestation comes from the interaction between the causative agent and the host's immune and inflammatory response (Dentino et al., 2013).

Diabetes mellitus type 2 (DM2) is a chronic disease in which the pancreas does not produce enough insulin or the body becomes unable to use it effectively (Brugués et al., 2016). It has a high global prevalence and can affect 439 million people on the planet by the year 2030 (Shaw et al., 2010). The immune response and the exacerbated presence of cytokines are correlated with the onset and development of DM2, characterized as an inflammatory disease (Schmidt et al., 1999; Pradhan et al., 2001; Duncan et al., 2003; Kolb et al., Et al., 2006).

DM2 is considered a risk factor for the development of periodontal diseases (Pinson et al., 1995; Page et al., 1997), while individuals with PC have a significantly higher prevalence of diabetes when compared to patients without periodontal diseases (Soskone 2001). DM2 and PC, because they present the same inflammatory etiopathogenesis (Acharya et al., 2015), demonstrate a bidirectional relationship, since DM2 affects the severity of CP, and this may contribute to the individual's total inflammatory load, influencing the natural course of DM2 (Bascones-Martinez et al., 2011).

In periodontal lesions, excessive production of ROS is a result of the inflammatory response, which may induce the formation of oxLDL in the blood (Monteiro et al., 2009; Tamaki et al., 2015). Studies have shown a positive relationship between the periodontal intervention, performed through periodontal debridement, and the decrease of the serum levels of oxLDL (Monteiro et al., 2009; Caúla et al., 2014;

Tamaki et al., 2015. Monteiro et al., 2013, demonstrated that periodontal treatment was able to cause changes in serum levels of inflammatory markers, including oxLDL. Individuals with DM2 and PD have serum levels of oxLDL that indicate an inflammatory condition, in addition to reporting a risk for cardiovascular diseases. However, in the current literature it is still unclear whether these alterations in inflammatory markers and the decrease of oxLDL due to periodontal treatment occur in patients with T2DM. Therefore, the objective of the present study is to establish the levels of oxLDL in patients with T2DM, with or without generalized chronic periodontitis, and the influence of periodontal treatment on the decrease of oxLDL and the degree of glycemia in these patients.

## **Materials and Methods**

The methodology of the present study follows the norms of the new CONSORT-STATEMENT of 2010 (Moher et al., 2010) for clinical trials. The present study was submitted to the Human Research Ethics Committee and approved under number 1,504,963.

The population consisted of 24 diabetic patients with generalized chronic periodontitis and 24 diabetic patients without chronic periodontitis. These patients came from the Institute of Science and Technology - UNESP, Dentistry course in São José dos Campos - SP.

Inclusion criteria: individuals older than 35 years with DM2 diagnosed for more than five years and HbA1c between 7% and 11%; to be diagnosed with generalized chronic periodontitis: to present loss of clinical interproximal insertion > 3 mm in 2 nonadjacent teeth and loss of interproximal clinical insertion  $\geq$  5 mm, in 30% or more of the teeth present (Tonetti & Claffey, 2005); present at least 20 teeth; agree to participate in the study and sign the informed consent form (CNS Resolution 466/12 and the Professional Dental Ethics Code - C.F.O. - 179/93).

Exclusion Criteria: patients with cardiovascular disease, cancer, gastrointestinal disorders, skin diseases, pregnancy, lactation, smoking, arthritis, lupus; have undergone periodontal treatment in the last 12 months; have made use of antioxidant supplements, anti-inflammatories, or antibiotics within the previous 3 months; have changed the medication for glycemic control in the last 3 months; present dental elements with pulpal or periapical inflammation; any other diseases of inflammatory origin.

Treatment: Patients in the test group (diabetics with periodontal disease) received non-surgical periodontal treatment and maintenance every three months. Patients in the control group (diabetics without periodontal disease) received prophylaxis and maintenance every three months.

Clinical measures: plaque index - IP, gingival bleeding index - GI, depth of probing - PS, level of clinical insertion - NIC. The clinical measurements were performed with a

15 mm standardized periodontal probe - University North Carolina - UNC® (Hu-Friedy, Jacarepaguá - Rio de Janeiro).

Initial blood collection: After anamnesis and collection of clinical measures, all patients were referred to the clinical analysis laboratory to perform the initial blood collection.

Statistical analysis: The data were consolidated and made available on average  $\pm$  standard deviation, expressed in percentages. The evaluation of normality of the data was evaluated by the Shapiro-wilk test. The values of the concentrations of the biomarkers and oxLDL were compared inter and intragroup by repeated measures of variance test: Wilcoxon.

## Results

For this clinical study, initially, 356 diabetic patients were screened, of which 48 were included in the pre-established criteria. Participants were divided into 2 groups: DM2PC (n = 24) and DM2 without PC (n = 24). All patients remained until the end of the study. Patients in the DM2DP group had a mean age of 57.62 years, 12 of the female gender and 12 of the male gender. The individuals of the DM2 group without PD had a mean age of 56.25 years, being 12 females and 12 males, according to table 1. The periodontal clinical parameters evaluated were: IG, IP, PS, NIC and GR. The patients in the DM2DP group presented significant reductions ( $p < 0.05$ ) in the clinical indices, except for GR, after periodontal therapy, according to table 3. CT, TG, HDL and LDL were analyzed. In both DM2DP and DM2 groups without PD, there were no significant differences between baseline and T = 6, ie after treatment there was no decrease in lipid levels (Tables 4 and 5). The results of the leukocyte, neutrophil and hs-CRP levels are shown in Tables 4 and 5. In the patients in the T2DM group there were no significant changes in the inflammatory parameters between baseline and T = 6, and hs-CRP showed a tendency to decrease, but without significant results According to tables 4 and 5, HbA1c and fasting glucose were evaluated. In the DM2DP group, there was a significant reduction in HbA1c levels between the baseline and T = 6, and there were no significant changes in glucose. In the DM2 group without PD, HbA1c and glucose remained stable after 6 months. In the comparison between groups, HbA1c was statistically lower in patients in the DM2 group without PD. Thermo conductivity was significantly reduced in both groups after periodontal therapy. Patients with and without PD presented similar values for oxLDL throughout the study. Thermo conductivity and theta were significantly lower in the DM2 group without CP, both baseline and T = 6.

## Discussion

In the DM2DP group, the results revealed that the treatment performed improved the periodontal clinical parameters (PS, NIC, IP and GI), except that the GR had no significant changes. On the other hand, the DM2 group without periodontitis treatment promoted a decrease in PI and GI, maintaining PS, NIC and RG constants.



These results corroborate the findings of several studies involving diabetic patients (Sun et al., 2010, Sun et al., 2011, Chen et al., 2012, Monteiro et al., 2013, Mohan et al., et al., 2004). The present work shows that there was improvement after 6 months of follow-up, confirming the results of Acharya et al., 2015, Artese et al., 2014 and Chen et al., 2012. Artese et al., 2014, evaluated the clinical periodontal response and systemic of patients with DM2 and with chronic periodontitis. One group was treated with intense therapy, ie, supragingival and subgingival scaling, presenting improvements in IP, GI, PS, CIN and bleeding probing; and the other group receiving only supragingival scaling also exhibited significant clinical improvements, except in the NIC. They observed, therefore, that supragingival plaque control has a modest effect on periodontitis and a limited effect on systemic inflammatory markers, compared to intensive therapy. Thus, periodontal treatment involving subgingival scaling should be prioritized to control the inflammatory burden in individuals with T2DM. Despite this, Caúla et al., 2014 did not find a decrease in CIN after subgingival therapy in patients with DM2. Patients with DM2 present hyperglycemia, usually associated with hyperlipidemia, which are closely involved with diabetic complications (Sgolastra et al., 2012). High concentrations of TG, TC, LDL and low levels of HDL accelerate the development of atherosclerosis (Górski et al., 2016). In addition, low levels of HDL and high levels of LDL are associated with the development of periodontitis (Lee et al., 2017). Non-surgical periodontal treatment may be effective in reducing lipid levels in patients with chronic periodontitis (Caúla et al., 2014).

Periodontal treatment may improve glycemic control and insulin resistance by reducing proinflammatory cytokines and increasing levels of adiponectin (anti-inflammatory cytokine produced by adipocytes) in patients with T2DM (Sun et al., 2011). as demonstrated by several studies (Daré et al., 2008, Katagiri et al., 2009, Sun et al., 2010, Bascones-Martinez et al., 2011, Chen et al., 2012, Salman et al., 2016).

The results found in the present study corroborate with the aforementioned literature, because after periodontal treatment, patients with chronic periodontitis exhibited significantly lower levels of HbA1c when compared to the baseline. Goel et al., 2017 and Mizuno et al., 2017 found controversial results, since periodontal debridement was not able to improve glycemic rates.

In this study, there were no significant differences in the rates of oxLDL between groups, and significant differences were found in the levels of oxLDL after periodontal treatment, conflicting with Tamaki et al., 2011 and Monteiro et al., 2013. However, these studies did not evaluate patients with T2DM, and it can be inferred that the glycemic profile exerted influence on this serum marker, in agreement with the findings of Bastos et al., 2012, that found in diabetic patients a higher concentration of lipid oxidation, indicating that the lipid peroxidation is strongly associated with the

intensity of the inflammatory response and the susceptibility to periodontal disease in diabetic patients.

It should be emphasized that in the present study, the participants did not receive any type of instruction regarding changes in eating habits nor were they encouraged to practice and physical exercises, factors that could have influenced the results. However, some aspects may have interfered in the serum parameters evaluated, such as obese patients, insulin-dependent patients and the medication used by each patient during the time of the study.

Based on the results obtained and within the limitations of this study, it can be concluded that non-surgical periodontal therapy was effective in reducing HbA1c rates in diabetic patients with chronic periodontitis, but did not influence oxLDL.

## References

- Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV. Effect of scaling and root planing on serum interleukin-10 levels and glycemic control in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *J Indian Soc Periodontol*. 2015 Mar-Apr;19(2):188-93. doi: 10.4103/0972-124X.148644.
- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975 Dec;25(4):229-35.
- Artese HPC, Longo PL, Gomes GH, Mayer MPA, Romito GA. Supragingival biofilm control and systemic inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Braz Oral Res [online]*. 2015;29(1):1-7. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0071
- Bascones-Martinez A, Matesanz-Perez P, Escribano-Bermejo M, González-Moles MÁ, Bascones-Ilundain J, Meurman JH. Periodontal disease and diabetes- Review of the Literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011 Sep 1; 16(6):e722-9. doi:10.4317/medoral.17032. doi:10.4317/medoral.17032.
- Brugués A, Bromuri S, Barry M, Del Toro ÓJ, Mazurkiewicz MR, Kardas P, et al. Processing Diabetes Mellitus Composite Events in MAGPIE. *J Med Syst*. 2016 Feb;40(2):44. doi: 10.1007/s10916-015-0377-1.
- Bullon P, Newman HN, Battino M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? *Periodontol 2000*. 2014 Feb;64(1):139-53. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00455.x.
- Caúla AL, Lira-Junior R, Tinoco EMB, Fischer RG. The effect of periodontal therapy on cardiovascular risk markers: a 6-month randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2014; 41: 875–82. doi: 10.1111/jcpe.12290.
- 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. *J Periodontol*. 2012 Apr; 83(4):435-43. doi: 10.1902/jop.2011.110327.

Darré L, Vergnes JN, Gourdy P, Sixou M. Efficacy of periodontal treatment on glycaemic control in diabetic patients: A meta-analysis of interventional studies. *Diabetes Metab*. 2008 Nov; 34(5):497-506. doi: 10.1016/j.diabet.2008.03.006

Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontol* Dhadse P, Gattani D, Mishra R. The link between periodontal disease and cardiovascular disease: How far we have come in last two decades? *J Indian Soc Periodontol*. 2010 Jul; 14(3):148-54. doi: 10.4103/0972-124X.75908.

Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2011 Feb; 11(2):98-107. doi: 10.1038/nri2925.

Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, et al. Atherosclerosis Risk in Communities Study. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003 Jul; 52(7):1799-805. doi.org/10.2337/diabetes.52.7.1799.

Goel K, Pradhan S, Bhattarai MD. Effects of nonsurgical periodontal therapy in patients with moderately controlled type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis in Nepalese population. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2017 Jul 17;9:73-80. doi: 10.2147/CCIDE.S138338.

Górski B, Nargiełło E, Opolski G, Ganowicz E, Górska R. The Association Between Dental Status and Systemic Lipid Profile and Inflammatory Mediators in Patients After Myocardial Infarction. *Adv Clin Exp Med*. 2016 Jul-Aug;25(4):625-30. doi: 10.17219/acem/62937.

Halliwel B. Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol* 1995; 49: 1341–1348.  
Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):860-7. doi: 10.1038/nature05485.  
*J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:210-3. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00822.x

Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Uchimura I, Izumiyama H, Inagaki K, et al. Multi-center intervention study on glycohemoglobin (HbA1c) and serum, high-sensitivity CRP (hs-CRP) after local anti-infectious periodontal treatment in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009 Mar; 83(3):308-15. doi: 10.1016/j.diabres.2008.10.016.

Kolb H, Mandrup-Poulsen T. An immune origin of type 2 diabetes? *Diabetologia*. 2005 Jun; 48(6):1038-50. doi: 10.1007/s00125-005-1764-9.

Mizuno H, Ekuni D, Maruyama T, Kataoka K, Yoneda T, Fukuhara D, Sugiura Y, Tomofuji T, Wada J, Morita M. The effects of non-surgical periodontal treatment on

glycemic control, oxidative stress balance and quality of life in patients with type 2 diabetes: A randomized clinical trial. *PLoS One*. 2017 Nov 16;12(11):e0188171. doi: 10.1371/journal.pone.0188171.

Mohan M, Jhingran R, Bains VK, Gupta V, Madan R, Rizvi I, et al. Impact of scaling and root planing on C-reactive protein levels in gingival crevicular fluid and serum in chronic periodontitis patients with or without diabetes mellitus. *J Periodontal Implant Sci*. 2014;44:158-168. doi: 10.5051/jpis.2014.44.4.158.

Molena-Fernandes CA, Nardo Junior N, Tasca RS, Pelloso SM, Cuman RKN. A importância da associação de dieta e de atividade física na prevenção e controle do Diabetes mellitus tipo 2. *Maringá*, v. 27, n. 2, p. 195-205, 2005.

Monteiro AM, Jardini MAN, Alves S, Giampaoli AECQ, Figueiredo Neto AM, Gidlund M. Measurement of the non linear optical response of low-density lipoprotein solutions from patients with periodontitis before and after periodontal treatment: evaluation of cardiovascular risk markers. *J. Biomedical Optics* 2012; 17(11), 115004. <http://dx.doi.org/10.1117/1.JBO.17.11.115004>.

Monteiro AM, Jardini MAN, Alves S, Giampaoli, AECQ, Figueiredo Neto AM, Gidlund M. Cardiovascular Disease Parameters in Periodontitis. *J Periodontol* 2009;80: 378-88. doi: 10.1902/jop.2009.080431.

Morettini M, Storm F, Sacchetti M, Cappozzo A, Mazzà C. Effects of walking on low-grade inflammation and their implications for Type 2 Diabetes. *Prev Med Rep*. 2015 Jun 16;2:538-47. doi: 10.1016/j.pmedr.2015.06.012.

Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000. 1997 Jun;14:216-48. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00199.x

Perales-Torres AL, Castillo-Ruiz O, Castañeda Licón MT, Alemán-Castillo SE, Jiménez Andrade JM. Diabetes and type of diet as determinant factor in the progression of atherosclerosis. *Arch Cardiol Mex*. 2016 Jan 13. pii: S1405-9940(15)00133-0. doi: 10.1016/j.acmx.2015.12.003. doi: 10.1016/j.acmx.2015.12.003.

Pinson M, Hoffman WH, Garnick JJ, Litaker MS. Periodontal disease and type I diabetes mellitus in children and adolescents. *J Clin Periodontol*. 1995 Feb;22(2):118-23. doi: 10.1111/j.1600-051X.1995.tb00122.x

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001 Jul 18;286(3):327-34. doi:10.1001/jama.286.3.327.

Rösen P, Nawroth PP, King G, Möller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American

Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001 May-Jun;17(3):189-212. doi: 10.1002/dmrr.196.

Sadia Salman, Khurshid Khan, Fariha Salman, Maliha Hameed. Effect of non-surgical periodontal treatment on Glycemic control among type 2 diabetes mellitus Patients with periodontitis. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2016;28(4).

Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet.* 1999 May 15;353(9165):1649-52. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)01046-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)01046-6).

Seyoung Lee, Aejung Im, Eunae Burm, Mina Ha. Association Between Periodontitis With Blood Lipid Levels in Korean Population. *Journal of Periodontology*; Copyright 2017. doi: 1902/jop.2017.170111.

Sgolastra F, Severino M, Pietropaoli D, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of periodontal treatment to improve metabolic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Periodontol.* 2013 Jul;84(7):958-73. doi: 10.1902/jop.2012.120377.

Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*; 2010, 87:4-14. doi: 10.1016/j.diabres.2009.10.007.

Silva-Boghossian CM, Orrico SR, Gonçalves D, Correa FO, Colombo AP. Microbiological changes after periodontal therapy in diabetic patients with inadequate metabolic control. *Braz Oral Res.* 2014;28. doi: S1806-83242014000100222.

Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Ann Periodontol.* 2001 Dec;6(1):91-8. Review. doi: 10.1902/annals.2001.6.1.91.

Srirangarajan S, Setty R, Satyanarayan A, Shetty S. Effect of full-mouth disinfection on insulin sensitivity in type 2 diabetes patients with and without chronic periodontitis. *Quintessence Int.* 2016 Feb;47(2):103-12. doi: 10.3290/j.qi.a34811.

Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Ren YZ, Qin GM. Changes of adiponectin and inflammatory cytokines after periodontal intervention in type 2 diabetes patients with periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2010 Dec; 55(12):970. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.08.001.

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.*

Tamaki N, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R, Morita M. Periodontal treatment

decreases plasma oxidized LDL level and oxidative stress. Clin Oral Invest, 2011; 15:953–8. doi: 10.1007/s00784-010-0458-y.

Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. European Workshop in Periodontology group C.

Table 1 - Demographic data

GROUP	AGE	GENRE
DM2DP	57,625±9,77	M=12/F=12
DM2 sem DP	56,25±9,46	M=12/F=12

Table 2 - Intragroup comparison of periodontal clinical parameters

	DM2PC			DM2 sem PC		
	T=0	T=6	P-value	T=0	T=6	P-value
IG	62%±18%	22%±10%	<b>0,0000194</b>	24%±14%	11%±8%	<b>0,0001112</b>
IP	81%±16%	52%±20%	<b>0,0002148</b>	77%±14%	43%±21%	<b>0,0000672</b>
OS	3,3±0,79	2,52±0,27	<b>0,0000284</b>	2,20±0,24	2,12±0,21	0.1544
NIC	3,85±0,94	3,05±0,48	<b>0,00002877</b>	2,49±0,50	2,42±0,43	0.2002
RG	0,54±0,34	0,55±0,34	1	0,29±0,39	0,29±0,39	NA

Table 3 - Comparison between groups of periodontal clinical parameters

	DM2PC			DM2 sem PC		
	T=0	T=6	P-value	T=0	T=6	P-value
IG	62%±18%	24%±14%	<b>0,000001214</b>	22%±10%	11%±8%	<b>0,0002677</b>
IP	81%±16%	77%±14%	0.1575	52%±20%	43%±21%	0.1375
PS	3,3±0,79	2,20±0,24	<b>0,0000000363</b>	2,52±0,27	2,12±0,21	<b>0,000007195</b>
NIC	3,85±0,94	2,49±0,50	<b>0,0000000897</b>	3,05±0,48	2,42±0,43	<b>0,00005342</b>
RG	0,54±0,34	0,29±0,39	1	0,55±0,34	0,29±0,39	<b>0,004402</b>

Table 4 - Intragroup comparison of serum parameters

	DM2 com PC			DM2 sem PC		
	T=0	T=6	P-value	T=0	T=6	P-value
oxLDL	1,66±0,59	1,69±0,58	0.72	1,93±0,81	1,86±0,81	0.89
Colesterol	219,70±34,55	220,00±39,97	0.93	197,87±29,92	196,25±31,75	0.67
TG	204,25±64,51	216,29±70,29	0.29	172,87±60,72	184,16±57,15	0.42

LDL	114,83±41,68	118,12±41,96	0.65	101,54±33,05	99,70±34,82	0.81
HDL	64,0±18,18	58,54±17,10	0.08	61,91±16,61	59,75±14,84	0.49
Glicose	172,67±63,32	182,66±71,42	0.72	151,07±60,29	133,75±46,53	0.06
Hb1c	9,41±1,73	8,72±1,48	<b>2,5<sup>3</sup></b>	7,81±1,45	7,41±1,73	0.06
PCR-us	6,95±11,11	4,42±4,74	0.05	4,01±3,76	3,82±3,49	0.80
Leucocitos	7812,50±2152,91	7231,66±1858,25	0.08	7520,83±1826,61	6912,50±1507,46	<b>2,967<sup>2</sup></b>
Neutrofilos	4889,95±1619,74	4480,87±1318,60	0.96	4678,75±1480,60	4158,45±1216,78	0.44

Table 5 - Comparison between groups of serum parameters

	T=0			T=6		
	Teste	Controle	P-value	Teste	Controle	P-value
oxLDL	1,66±0,59	1,93±0,81	0.2567	1,69±0,58	1,86±0,81	0.7649
Colesterol	219,70±34,55	197,87±29,92	<b>0.02661</b>	220,0±39,97	196,25±31,75	0.06055
TG	204,25±64,51	172,87±60,72	0.08885	216,29±70,29	184,16±57,15	0.08133
LDL	114,83±41,68	101,54±33,05	0.2976	118,12±41,96	99,70±34,82	0.1195
HDL	64,0±18,18	61,91±16,61	0.606	58,54±17,10	59,75±14,84	0.7335
Glicose	172,67±63,32	151,07±60,29	0.1765	182,66±71,42	133,75±46,53	<b>0.006902</b>
Hb1c	9,41±1,73	7,81±1,45	<b>0.003178</b>	8,72±1,48	7,41±1,73	<b>0.003072</b>
PCR-us	6,95±11,11	4,01±3,76	0.543	4,42±4,74	3,82±3,49	0.9425
Leucócitos	7812,50±2152,91	7520,83±1826,61	0.6648	7231,66±1858,25	6912,50±1507,46	0.5429
Neutrófilos	4889,95±1619,74	4678,75±1480,60	0.6207	4480,87±1318,60	4158,45±1216,78	0.1518

## ANEXO A – Comitê de Ética.

INSTITUTO DE CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO  
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** INFLUÊNCIA DA DOENÇA PERIODONTAL SOBRE MARCADORES CARDIOVASCULARES EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS

**Pesquisador:** Maria Aparecida Neves Jardini

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 53785516.6.0000.0077

**Instituição Proponente:** Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.504.963

#### Apresentação do Projeto:

Resumo:

A Doença Periodontal (DP) e o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) apresentam a mesma etiopatogênese inflamatória e demonstram uma relação bidirecional, pois DM2 afeta a severidade da DP, e esta pode contribuir para a carga inflamatória total do indivíduo, influenciando o curso natural do DM2. O objetivo deste estudo será avaliar a influência da DP sobre marcadores inflamatórios em pacientes portadores de DM2. 40 pacientes serão divididos em 2 grupos: DM2DP (pacientes diabéticos com periodontite crônica) e DM2G (pacientes diabéticos com gengivite). O grupo DM2DP receberá debridamento periodontal e o grupo DM2G será tratado com raspagem supragengival. Ambos os grupos receberão controle de placa a cada 3 meses. No baseline e 6 meses após o tratamento, será realizada tomada dos parâmetros clínicos periodontais (índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem, recessão gengival relativa, nível de inserção clínica e índice de PISA) e coleta de sangue para avaliação dos marcadores séricos inflamatórios (oxLDL, LDL, HDL, colesterol total, triacilglicerol, IL-1, IL-6, IL-8,

**Endereço:** Av. Engº Francisco José Longo 777

**Bairro:** Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000

**UF:** SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS

**Telefone:** (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br



INSTITUTO DE CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO  
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP



Continuação do Parecer: 1.504.963

IL-10, TNF-, e PCR). Os dados obtidos antes e após a terapia periodontal serão avaliados e comparados

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Avaliar a influência do tratamento periodontal sobre marcadores cardiovasculares em pacientes portadores de diabetes.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

A participação do sujeito de pesquisa não implica em risco aumentado a nenhuma ocorrência que já não seja inerente ao próprio tratamento odontológico proposto, como dor local leve ou moderada, desconforto mastigatório temporário e fatores psicológicos como uma ligeira ansiedade inerente ao fato de ir ao dentista. Em caso de outros motivos de força maior, a participação do sujeito da pesquisa será encerrada imediatamente.

Benefícios:

Esperamos trazer como benefício o esclarecimento de como tratamento da doença periodontal pode influenciar nos marcadores cardiovasculares em pacientes portadores de diabetes. Todos os pacientes receberão informações sobre seu estado de saúde bucal e da relação entre doença periodontal e diabetes mellitus

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trabalho com excelente proposta

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram todos adequados

**Recomendações:**

A PESQUISADORA DEVERÁ ATENTAR PARA O ENVIO DE RELATÓRIO SEMESTRAL NA FORMA DE NOTIFICAÇÃO, CASO NÃO O FAÇA, FICARÁ IMPEDIDO DE NOVA AVALIAÇÃO JUNTO AO CEP, ATÉ PERDURAR A PENDÊNCIA

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Nada a declarar

**Endereço:** Av. Engº Francisco José Longo 777

**Bairro:** Jardim São Dimas

**CEP:** 12.245-000

**UF:** SP

**Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS

**Telefone:** (12)3947-9078

**Fax:** (12)3947-9010

**E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br

INSTITUTO DE CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO  
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP



Continuação do Parecer: 1.504.963

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Colegiado acata o parecer da relatora.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_670383.pdf	16/03/2016 16:47:45		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	16/03/2016 16:47:12	Maria Aparecida Neves Jardini	Aceito
Folha de Rosto	frosto.pdf	03/03/2016 11:55:49	Maria Aparecida Neves Jardini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetofinal.pdf	01/03/2016 15:23:47	Maria Aparecida Neves Jardini	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 18 de Abril de 2016

\_\_\_\_\_  
**Assinado por:**  
**Denise Nicodemo**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Av. Engº Francisco José Longo 777  
**Bairro:** Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000  
**UF:** SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS  
**Telefone:** (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br