

RESSALVA

Atendendo solicitação do (a) autor
(a), o texto completo desta tese será
disponibilizado a partir de

31/05/2021



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

NÍDIA CRISTINA CASTRO DOS SANTOS

**EFEITOS CLÍNICOS E IMUNOLÓGICOS DE ÁCIDOS
GRAXOS POLI-INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA
EM BAIXA DOSAGEM COMO ADJUVANTES AO
DEBRIDAMENTO PERIODONTAL EM PACIENTES COM
DIABETES TIPO 2: estudo clínico randomizado**

NÍDIA CRISTINA CASTRO DOS SANTOS

**EFEITOS CLÍNICOS E IMUNOLÓGICOS DE ÁCIDOS GRAXOS
POLI-INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA EM BAIXA
DOSAGEM COMO ADJUVANTES AO DEBRIDAMENTO
PERIODONTAL EM PACIENTES COM DIABETES TIPO 2: estudo
clínico randomizado**

Tese 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 DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Estudos sobre microbiologia, imunologia e terapia em periodontia e implantodontia.

Orientador: Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria

Coorientador: Prof. Dr. Lúcio Murilo dos Santos

São José dos Campos

2019

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2019]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Castro dos Santos, Nídia Cristina

Efeitos clínicos e imunológicos de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e aspirina em baixa dosagem como adjuvantes ao debridamento periodontal em pacientes com diabetes tipo 2: estudo clínico randomizado / Nídia Cristina Castro dos Santos. - São José dos Campos : [s.n.], 2019.
70 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2019.

Orientador: Mauro Pedrine Santamaria

Coorientador: Lúcio Murilo Dos Santos

1. Periodontite. 2. Diabetes. 3. Ácidos Graxos Poli-insaturados. 4. Aspirina. 5. Mediadores da inflamação. I. Santamaria, Mauro Pedrine, orient. II. Dos Santos, Lúcio Murilo, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos-SP

Prof. Dra. Luciene Cristina de Figueiredo

Universidade de Guarulhos (UNG)

Faculdade de Odontologia

Campus de Guarulhos-SP

Prof. Tit. Francisco Humberto Nociti Júnior

Universidade de Campinas (Unicamp)

Faculdade de Odontologia

Campus de Piracicaba-SP

Profa. Assoc. Juliana Campos Junqueira

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos-SP

Profa. Dra. Andrea Carvalho de Marco

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos-SP

São José dos Campos, 31 de Maio de 2019.

DEDICATÓRIA

À minha avó, Christina Close (*in memoriam*).

À minha mãe, Mary Castro Santos.

Ao meu pai, Claudio Pereira dos Santos.

Ao meu filho, Bernardo dos Santos d'Avila.

Ao meu marido, João Gustavo di Salvio Teixeira.

À minha irmã, Beatriz Castro dos Santos.

Às minhas amigas Camila Cecarelli e Thaís Innocentini.

AGRADECIMENTOS

À UNESP, na pessoa do diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Prof. Tit. Estevao Tomomitsu Kimpara e da vice-diretora Profa. Assoc. Rebeca Di Nicoló.

Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora Profa. Assoc. Luciane Dias de Oliveira.

Ao meu orientador, Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria, pela sua dedicação à minha formação como pesquisadora e docente.

Aos docentes da UNESP, Prof. Dr. Nelson Luiz de Macedo, Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardim, Profa. Dra. Andrea Carvalho de Marco e Prof. Dr. Warley David Kerbauy, e ao coordenador do curso de especialização da APCD, Prof. Dr. Fábio Matuda, pela contribuição em minha formação em Periodontia.

Aos docentes do Departamento de Ciências Orais Aplicadas do Forsyth Institute, Prof. Dr. Thomas Van Dyke, Prof. Dr. Alpdogan Kantarci e Profa. Dra. Hatice Hasturk, pela contribuição em minha formação como pesquisadora.

Aos meus amigos e colegas de pós-graduação, em especial a Naira Bechara Andere, Cássia Fernandes Araujo, Felipe Lucas Neves, Camila Augusto Silveira, Stephanie Botti Fernandes, Marcus Vinícius Fonseca, Daniella Viscensotto Bernardo, Camilla Magnoni Nunes, Camila Lopes Ferreira, Thiago Rodrigues Lazzari, Vinicius Clemente, Amanda Rossato, Laís Fernanda Ferraz, Manuela Viana Miguel, Victória da Silva Lima, Luciana Ruano, Cristhian Gomez, Emmanuel Albuquerque de Souza e Batbileğ Bor.

Aos técnicos que colaboraram para a realização deste estudo, Márcia Cristina Garcia, Valéria Santos da Silva, Jacqueline Amaral Bueno, Danielle Stephens e Daniel Nguyen.

Aos meus coorientandos em iniciação científica, Ingrid de Oliveira Cardoso, Juliana Alonso Machado e Umar Padella, pela oportunidade de aprender a ensinar.

Aos meus pacientes, pela confiança.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pela concessão da bolsa de doutorado (Processo 2016/02234-7) e da bolsa de estágio em pesquisa no exterior (Processo 2017/21136-9).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS.....	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 PROPOSIÇÃO	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 População alvo	15
3.2 Tamanho da amostra	15
3.3 Critérios.....	16
3.3.1 Critérios de inclusão.....	16
3.3.2 Critérios de não-inclusão	17
3.4 Delineamento do estudo	17
3.5 Orientações sobre nutrição.....	18
3.6 Terapia inicial.....	18
3.7 Sequência de randomização, ocultamento da randomização e cegamento.....	18
3.8 Tratamento.....	19
3.9 Avaliações.....	20
3.9.1 Avaliação clínica	21
3.9.2 Avaliação metabólica	22
3.9.3 Avaliação imunológica	22
3.10 Análise estatística	23
4 RESULTADO	25
4.1 Dados demográficos	26

4.2	Parâmetro metabólico.....	27
4.3	Parâmetros clínicos	28
4.4	Análise imunológica	32
4.5	Análise de correlação	41
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO	58
	REFERÊNCIAS	59
	ANEXOS	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo.....	201
Figura 2 - Flowchart.....	25
Figura 3 - Níveis de HbA1c (%) para GC, GT1 e GT2 em t0 e t2	27
Figura 4 - Concentração dos níveis de IL-1 β (pg/mL).....	33
Figura 5 - Concentração dos níveis de TNF α - (pg/mL).....	34
Figura 6 - Concentração dos níveis de IL-6 (pg/mL).....	35
Figura 7 - Concentração dos níveis de IFN- γ (pg/mL)	36
Figura 8 - Concentração dos níveis de IL-4 (pg/mL).....	37
Figura 9 - Concentração dos níveis de IL-10 (pg/mL).....	38
Figura 10 - Concentração dos níveis de IL-8 (pg/mL).....	39
Figura 11 - Concentração dos níveis de MIP-1 α (pg/mL)	40
Figura 12 - Concentração dos níveis de MCP-1 (pg/mL).....	41
Figura 13 - Coocorrência e antagonismo da correlação entre variáveis clínicas, imunológicas e metabólica em t0 (n=45).....	42
Figura 14 - Coocorrência e antagonismo da correlação entre variáveis clínicas, imunológicas e metabólica em t2 (n=45).....	43
Figura 15 - Coocorrência de variáveis imunológicas em t0 (n=45).....	44
Figura 16 - Coocorrência de variáveis imunológicas em t2 (n=45).....	44
Figura 17 - Coocorrência de variáveis clínicas e imunológicas para o GT1 em t0, t1 e t2 (n=15).....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos.....	26
Tabela 2 - Parâmetros clínicos de boca toda (média \pm DP) em t0, t1 e t2.....	29
Tabela 3 - Frequência de distribuição de sítios (%) de acordo com PS.....	31
Tabela 4 - Número e porcentagem de pacientes que alcançaram ou não alcançaram o <i>endpoint</i> clínico do tratamento (≤ 4 bolsas periodontais com PS ≥ 5 mm) e número de bolsas periodontais com PS ≥ 5 mm (média \pm DP).....	32

Castro dos Santos NC. Efeitos clínicos e imunológicos de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e aspirina em baixa dosagem como adjuvantes ao debridamento periodontal em pacientes com diabetes tipo 2: estudo clínico randomizado [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2019.

RESUMO

A suplementação diária com ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 (ω -3) e a aspirina em baixa dosagem foram propostas como terapia de modulação do hospedeiro para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas. O objetivo deste estudo foi investigar as ações clínicas e imunológicas do ω -3 e da aspirina (AAS) como terapia adjunta ao debridamento periodontal de boca toda para o tratamento da periodontite em pacientes com diabetes tipo 2. Setenta e cinco pacientes ($n=25$ /grupo) que atendiam aos critérios de inclusão foram randomicamente designados para receber placebo e debridamento periodontal (GC), ω -3 (3g de óleo de peixe/dia por 60 dias) e AAS (100mg/dia por 60 dias) após o debridamento periodontal (GT1), e (3g de óleo de peixe/dia por 60 dias) e AAS (100mg/dia por 60 dias) antes do debridamento periodontal (GT2). Parâmetros clínicos periodontais e fluido gengival crevicular (FGC) foram coletados no baseline (t_0), 90 dias (GT1 e GC) (t_1), após a suplementação/medicação com ω -3 e AAS (t_1), e 180 dias após o debridamento periodontal (todos os grupos) (t_2). Dez pacientes (40%) no GT1 e nove pacientes (36%) no GT2 alcançaram o *endpoint* clínico para o tratamento (≤ 4 bolsas periodontais com profundidade de sondagem (PS) ≥ 5 mm), em contraste com quatro (16%) no GC. Houve ganho de inserção em bolsas moderadas e em bolsas profundas entre t_0 e t_2 para o GT1. Os níveis de concentração de IFN- γ , IL-1 β e IL-8 apresentaram redução em t_2 para os dois grupos teste, com mudanças significantes prévias (t_1) para o GT1. Os níveis de IL-6 apresentaram redução em t_1 e em t_2 para o GT1, e a MIP-1 α reduziu em t_2 no GT2. No GC a IL-1 β foi a única citocina a apresentar diferença estatisticamente significativa na comparação entre tempos. Os resultados deste estudo clínico sugerem que a terapia adjuvante de ω -3 e AAS após o debridamento periodontal promove maiores benefícios clínicos e imunológicos ao tratamento da periodontite em pacientes com diabetes tipo 2 quando comparado aos demais protocolos avaliados.

Palavras-chave: Periodontite. Diabetes. Ácidos graxos poli-insaturados. Aspirina. Mediadores da inflamação.

Castro dos Santos NC. *Clinical and immunological effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids and low-dose aspirin as adjuncts to periodontal debridement in patients with type 2 diabetes: randomized clinical trial [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2019.*

ABSTRACT

Daily dietary supplementation with omega-3 (ω -3) polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and low-dose aspirin (ASA) have been proposed as a host modulation therapy for the treatment of chronic inflammatory diseases. The aim of this study was to investigate the clinical and immunological actions of ω -3 PUFAs and ASA as an adjunct therapy to full-mouth periodontal debridement for the treatment of periodontitis in patients with type 2 diabetes. Seventy-five patients ($n=25$ /group) meeting the inclusion criteria were randomly assigned to receive placebo and periodontal debridement (CG), ω -3 (3g of fish oil/day for 60 days) and ASA (100mg/day for 60 days) after periodontal debridement (TG1), and ω -3 (3g of fish oil/day for 60 days) and ASA (100mg/day for 60 days) before periodontal debridement (TG2). Periodontal clinical parameters and gingival crevicular fluid (GCF) were collected at baseline (t_0), 90 days (TG1 and CG) (t_1), after ω -3 and ASA only (TG2) (t_1), and 180 days after periodontal debridement (all groups) (t_2). Ten patients (40%) in TG1 and nine patients (36%) in TG2 achieved the clinical endpoint for treatment (≤ 4 periodontal pockets with probing depth (PD) ≥ 5 mm), as opposed to four (16%) in CG. There was clinical attachment gain in moderate and deep pockets between t_0 and t_2 for TG1. Concentration levels of IFN- γ , IL-1 β , and IL-8 decreased over time for both test groups, with early (t_1) significant changes for TG1. IL-6 levels were lower at t_1 and t_2 for TG1, and MIP-1 α decreased at t_2 for TG2. In the CG, IL-1 β was the only marker presenting statistically significant changes over time. The results of this clinical study suggest that the adjunctive use of ω -3 and ASA after periodontal debridement provides clinical and immunological benefits to the treatment of periodontitis in patients with type 2 diabetes when compared to the other treatment protocols evaluated.

Keywords: Periodontitis. Diabetes. Omega-3 fatty acids. Aspirin. Inflammation mediators.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma inflamação crônica local que leva a destruição dos tecidos gengival e periodontal induzida por microrganismos específicos presentes no biofilme dental. A destruição tecidual é caracterizada por uma injúria tecidual mediada por neutrófilos, seguida de infiltrado inflamatório de monócitos e da presença de uma resposta imune adquirida (Kantarci, Van Dyke, 2005; Lamster et al., 1994). Embora a doença periodontal seja iniciada por bactérias patogênicas, estudos a respeito da patogênese da doença periodontal indicam que a maior parte do dano tecidual é decorrente da resposta do hospedeiro. Esta resposta imuno-inflamatória leva à produção de anticorpos específicos e de mediadores inflamatórios nos tecidos periodontais, bem como a uma resposta inflamatória sistêmica (Ebersole et al., 2013).

Já está bem estabelecido que a presença do diabetes aumenta o risco para o aparecimento e/ou progressão de doenças periodontais (Chapple, Genco, 2013). Diversos estudos demonstram que indivíduos portadores de diabetes tipo 2 tem maior prevalência e severidade de periodontite crônica em relação a pacientes normoglicêmicos além de um prognóstico pior de tratamento (Preshaw et al., 2012). Um dos principais mecanismos envolvidos na influência do diabetes nas doenças periodontais é um estado inflamatório gerado pela hiperglicemia crônica. Como o aumento da glicemia, há um aumento dos produtos avançados de glicação (AGES). As AGES se ligam a receptores específicos na membrana de células (RAGES) o que aumenta a produção e liberação de citocinas inflamatórias. A consequência final desse processo é um desequilíbrio na resposta imunológica, processo inflamatório mais exacerbado, mais duradouro e uma falta de resposta auto-limitante para a inflamação. Esse quadro aumenta as chances dos indivíduos portadores de diabetes

desenvolverem retinopatia, nefropatia, doenças vasculares, deficiência na cicatrização além de doença periodontal (Preshaw, Taylor, 2011).

Por sua vez, a presença da doença periodontal tem uma influência negativa em indivíduos portadores de diabetes mellitus. Estudos têm demonstrado que os mediadores inflamatórios produzidos durante o processo da doença periodontal, assim como os produtos microbianos do biofilme periodontal que entram na corrente sanguínea, podem aumentar o estado inflamatório geral do organismo e assim contribuir para o aparecimento ou piora do diabetes mellitus. Essa relação foi demonstrada em uma meta-análise que reportou que pacientes com periodontite e diabetes tipo 2 apresentaram uma redução na contagem hemoglobina glicada (HbA1c) após tratamento da doença periodontal, facilitando assim o controle do distúrbio metabólico (Engebretson, Kocher 2013). Assim, o bom controle das condições periodontais por meio da terapia periodontal pode melhorar significativamente a qualidade de vida de indivíduos com diabetes mellitus (Chapple, Genco, 2013).

A terapia de modulação do hospedeiro (TMH) surgiu como um novo conceito para o tratamento das doenças periodontais. A TMH tem sido utilizada como terapia adicional à terapia periodontal convencional. Esta terapia objetiva reduzir a destruição tecidual decorrente dos processos inflamatórios exacerbados, mais duradouro e uma falta de resposta auto-limitante para a inflamação. Estudos a respeito de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (ω -3) foram realizados para avaliar seu efeito em inflamações crônicas e doenças autoimunes, como artrite reumatoide, colite ulcerativa, aterosclerose, doença cardiovascular e periodontite (Serhan, 2008). Um efeito benéfico foi observado e atribuído, primeiramente, a uma diminuição na produção de mediadores inflamatórios clássicos, como prostaglandina E2 e citocinas pró-inflamatórias (Calder, 2006). Além disso, diversos estudos mostraram que ácidos graxos poli-insaturados (ω -3) são agentes precursores para uma conversão enzimática de

uma série de mediadores lipídicos chamados de resolvinas, protectinas e maresinas (Serhan et al., 2002, 2004, 2008; Hong et al., 2003). Sintetizadas a partir do ácido acetil salicílico, as lipoxinas também são importantes mediadores lipídicos especializados, tendo demonstrado atuar na inibição do recrutamento de neutrófilos e na prevenção da perda óssea alveolar em modelos de doença periodontal. O ácido acetil salicílico também é um agente precursor na produção de lipoxinas e resolvinas desencadeadas por aspirina, aumentando o potencial desses mediadores na ação resolutiva da inflamação (Serhan, Chiang, 2008).

El-Sharkawy et al. (2010) realizaram um estudo clínico randomizado em que pacientes com periodontite crônica foram tratados com raspagem e alisamento radicular com suplementação diária de (ω -3) e aspirina (AAS) (grupo teste) ou placebo (grupo controle). Neste estudo, o grupo teste obteve diminuição na profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção significativamente maiores em relação ao grupo controle. Outros estudos que utilizaram ω -3 e AAS como adjuvantes no tratamento de raspagem e alisamento radicular também obtiveram resultados semelhantes (Elwakeel, Hazaa, 2015; Deore et al., 2014). Naqvi et al. (2014) realizaram um estudo clínico randomizado para avaliar a influência de ácidos graxos poli-insaturados de ω -3 (2g) e AAS (81mg) na periodontite crônica, sem que terapias clínicas fossem aplicadas. O estudo mostrou que a suplementação diária de ω -3 e AAS melhorou significativamente os parâmetros clínicos e inflamatórios locais.

Devido aos resultados favoráveis à ação terapêutica de lipídios mediadores da inflamação derivados de ω -3 e AAS para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas, esta modalidade terapêutica tem grande potencial para promover a resolução da inflamação e restaurar a homeostase em pacientes com periodontite e diabetes (Sima, Van Dyke, 2016).

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo clínico randomizado demonstraram que a suplementação diária de ácidos graxos poli-insaturados de ω -3 e AAS em baixa dosagem como adjuvantes ao debridamento periodontal provoveram benefícios clínicos e imunológicos em pacientes com diabetes tipo 2. Um maior número de pacientes atingiu o *endpoint* clínico para o tratamento periodontal (≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm) em ambos os grupos teste em relação ao grupo controle. Houve ganho de inserção clínica em bolsas moderadas e profundas entre t0 e t2 para o GT1. Ambos os grupos teste apresentaram diminuição no NIC entre t0 e t2, enquanto esse resultado não foi observado para o GC. A suplementação/medicação diminuiu as concentrações dos níveis de IFN- γ , IL-1 β e IL-8 presentes no FGC nos grupos teste, IL-6 no GT1 e MIP-1 α no GT2, enquanto o GC só apresentou redução dos níveis de IL-1 β , sugerindo efetividade no papel imunomodulador da terapia adjunta de ω -3 e AAS. A administração de ω -3 e AAS após o debridamento periodontal demonstrou ser o protocolo mais efetivo dentre os tratamentos avaliados para o tratamento da periodontite em pacientes com diabetes tipo 2.

REFERÊNCIAS*

- Abduljabbar T, Vohra F, Javed F, Akram Z. Antimicrobial photodynamic therapy adjuvant to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;17:138-46. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.11.008.
- Agarwal E, Bajaj P, Naik SB, Pradeep AR. Locally delivered 0.5% azithromycin as na adjunct to non-surgical treatment in patients with chronic periodontitis with type 2 diabetes: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2017;88(12):1281-7. doi: 10.1902/jop.2012.120172.
- Anovazzi G, Kim YJ, Viana AC, Curtis KM, Orrico SR, Cirelli JÁ, et al. Polymorphisms and haplotypes in the interleukin-4 gene are associated with chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Periodontol*. 2010;81(3):392-402. doi: 10.1902/jop.2009.090392.
- Junior, Scarel-Caminaga RM. Functional haplotypes in interleukin 4 gene associated with periodontitis. *PLoS One*. 2017;12(1): e0169870. doi: 10.1371/journal.pone.0169870.
- Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(6 Suppl):1505S-1519S.
- Castro dos Santos NC, Andere NM, Araujo CF, de Marco AC, Dos Santos LM, Jardini MA, et al. Local adjunct effect of antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of chronic periodontitis in type 2 diabetics: split-mouth double-blind randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2016;31(8):1633-40. doi: 10.1007/s10103-016-2030-8.
- Chan AW, Tetzlaff JM, Gøtzsche PC, Altman DG, Mann H, Berlin JA, et al. SPIRIT 2013 explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *BMJ*. 2013;8:346,e7586. doi: 10.1136/bmj.e7586
- Chapple IL, Genco R; working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol*. 2013;84(4 Suppl):S106-112. doi: 10.1902/jop.2013.1340011.

* 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

Chapple IL, Wilson NH. Manifesto for a paradigm shift: periodontal health for a better life. *Br Dent J*. 2014 Feb;216(4):159-62.

Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol*. 1996;1(1):443-90. doi: 10.1038/sj.bdj.2014.9.

Deore G, Gurav A, Patil R, Shete A, NaikTari R, Inamdar S. Omega-3 fatty acids as a host modulator in chronic periodontitis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *J Peridontal Implant Sci*. 2014;44(1):25-32. doi: 10.5051/jpis.2014.44.1.25.

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;41(1):11-8. doi: 10.1111/jcpe.12179.

Ebersole JL, Dawson DR 3rd, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: “double indemnity” in protecting the host. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):163-202. doi: 10.1111/prd.12005.

El-Sharkawy H, Aboelsaad N, Eliwa M, Darweesh M, Alshahat M, Kantarci A, et al. Adjunctive treatment of chronic periodontitis with daily dietary supplementation with omega-3 fatty acids and low-dose aspirin. *J Periodontol*. 2010;81(11):1635-43. doi: 10.1902/jop.2010.090628.

El-Sharkawy HM, Anees MM, Van Dyke TE. Propolis improves periodontal status and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2016;87(12):1418-26. doi:10.1902/jop.2016.150694.

Elwakeel N, Hazaa H. Effect of omega 3 fatty acids plus low-dose aspirin on both clinical and biochemical profiles of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Periodont Res*. 2015. doi: 10.1111/jre.12257.

Engelbreton S, Kocher T. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2013;84(4-s):S153-S163. doi: 10.1902/jop.2013.1340017.

Feres M, Soares GMS, Mendes JAV, Silva MP, Faveri M, Teles R, et al. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of

chronic periodontitis: a 1-year double-blinded placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2012; 39:1149-58. doi: 10.1111/jcpe.12004.

Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):149-64. doi: 10.1111/prd.12034.

Friday KE, Childs MT, Tsunehara CH, Fujimoto WY, Bierman EL, Ensink JW. Elevated plasma glucose and lowered triglyceride levels from omega-3 fatty acids supplementation in type II diabetes. *Diabetes Care*. 1989;12(4):276-81.

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. doi: 10.1177/0022034510376402.

Gilowski L, Kondzielnik P, Wiench R, Płocica I, Strojek K, Krzemiński TF. Efficacy of short-term adjunctive subantimicrobial dose doxycycline in diabetic patients – randomized study. *Oral Dis*. 2012;18(8):763-70. doi: 10.1111/j.1601-0825.2012.01943.x.

Glauber F, Wallace P, Griver K, Brechtel G. Adverse metabolic effect of omega-3 fatty acids in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 1988;108(5):663-8.

Golub LM, Sorsa T, Lee HM, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, et al. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol*. 1995; 22(2):100-9.

Grellmann AP, Sfreddo CS, Maier J, Lenzi TL, Zanatta FB. Systemic antimicrobials adjuvant to periodontal therapy in diabetic subjects: a meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2016;43(3):250-60. doi: 10.1111/jcpe.12514.

Gupta SK. Intention-to-treat concept: A review. *Perspect Clin Res*. 2011;2(3):109-12. doi: 10.4103/2229-3485.83221

Harks I, Koch R, Eickholz P, Hoffmann T, Kim T, Kocher T, et al. Is progression of periodontitis relevantly influenced by systemic antibiotics? A clinical randomized trial. *J Clin Periodontol*. 2015;42(9):832-42. doi: 10.1111/jcpe.12441.

Hong S, Gronert K, Devchand PR, Moussignac RL, Serhan CN. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine

brain, human blood, and glial cells. Autacoids in anti-inflammation. *J Biol Chem*. 2003;278(17):14677-87. doi: 10.1074/jbc.M300218200.

Hu X, Ivashkiv LB. Cross-regulation of signaling pathways by interferon-gamma: implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity*. 2009;31(4):539-50. doi: 10.1016/j.immuni.2009.09.002.

Kantarci A, Van Dyke TE. Resolution of inflammation. *J Periodontol*. 2005;76(11Suppl):2168-2174.

Keskiner I, Saygun I, Bal V, Serdar M, Kantarci A. Dietary supplementation with low-dose omega-3 fatty acids reduces salivary tumor necrosis factor- α levels in patients with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical study. *J Periodontal Res*. 2017;52(4):695-703. doi: 10.1111/jre.12434.

Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontology 2000*. 2000;23:50–62.

Lamster IB, Smith QT, Celenti RS, Singer RE, Gribc JT. Development of a risk profile for periodontal disease: microbial and host response factors. *J Periodontol*. 1994;65(5Suppl):511-20. doi: 10.1902/jop.1994.65.5s511

Lane N, Armitage GC, Loomer P, Hsieh S, Majumdar S, Wang HY, et al. Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol*. 2005;76(7):1113-22. doi: 10.1902/jop.2005.76.7.1113.

Lin SJ, Tu YK, Tsai SC, Lai SM, Lu HK. Non-surgical periodontal therapy with and without minocycline administration in patients with poorly controlled type II diabetes: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2012;16(2):599-609. doi: 10.1007/s00784-011-0535-x.

Macedo G de O, Novaes AB Jr, Souza SL, Taba M Jr, Palioto DB, Grisi MF. Additional effects of aPDT on nonsurgical periodontal treatment with doxycycline in type II diabetes: randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2014;29(3):881-6. doi: 10.1007/s10103-013-1285-6.

Matsuda T, Kishimoto T. Interleukin 6. *Encyclopedia of Immunology (Second Edition)*. 1998:1458-61. doi:<https://doi.org/10.1006/rwei.1999.0371>.

Maurer M, von Stebut E. Macrophage inflammatory protein-1. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004 Oct;36(10):1882-6.

Mitchell RE, Hassan M, Burton BR, Britton G, Hill EV, Verhagen J, et al. IL-4 enhances IL-10 production in Th1 cells. Implications for Th1 and Th2 regulation. *Sci Rep.* 2017 Sep 12;7(1):11315. doi: 10.1038/s41598-017-11803-y.

Miranda TS, Feres M, Perez-Chaparro PJ, Faveri M, Figueiredo LC, Tamashiro NS, et al. Metronidazole and amoxicillin as adjuncts to scaling and root planing for the treatment of type 2 diabetic subjects with periodontitis: 1-year outcomes of a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2014;41(9):890-9. doi: 10.1111/jcpe.12282.

Mohamed HG, Idris SB, Ahmed MF, Astrom AN, Mustafa K, Ibrahim SO, et al. Influence of type 2 diabetes on local production of inflammatory molecules in adults with and without chronic periodontitis. *BMC Oral Health.* 2015 Jul 27;15:86. doi: 10.1186/s12903-015-0073-z.

Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ.* 2010;340:c869. doi: 10.1016/j.jclinep.2010.03.004.

Naqvi AZ, Hasturk H, Mu L, Phillips RS, Davis RB, Halem S, et al. Docosahexaenoic acid and periodontitis in adults: a randomized controlled trial. *J Dent Res.* 2014;93(8):767-73. doi: 10.1177/002034541125.

Navarro-Sanchez AB, Faria-Almeida R, Bascondes-martinez A. Effect of non-surgical periodontal therapy on clinical and immunological response and glycaemic control in type 2 diabetic patients with moderate periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007 Oct;34(10):835-43.

Novak MJ, Dawson DR 3rd, Magnusson I, Karpinia K, Polson A, Polson A, et al. Combining host modulation and topical antimicrobial therapy in the management of moderate to severe periodontitis: a randomized multicenter trial. *J Periodontol.* 2008;79(1):33-41. doi: 10.1902/jop.2008.070237.

Paquette DW, Williams RC. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2000;24:239-52.

Pradeep AR, Roopa Y, Swati PP. Interleukin-4, a T-helper 2 cell cytokine, is associated with the remission of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2008;43(6):712-6. doi: 10.1111/j.1600-0765.2007.01079.x.

Pradeep AR, Garg V, Raju A, Singh P. Adjunctive local delivery of aloe vera gel in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2016;87(3):268-74. doi: 10.1902/jop.2015.150161.

Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia.* 2012;55:21–31. doi: 10.1007/s00125-011-2342-y.

Qu D, Liu J, Lau CW, Huang Y. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. *Br J Pharmacol.* 2014;171(15):3595-603. doi: 10.1111/bph.12713.

Rehman K, Akash MS. Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked? *J Biomed Sci.* 2016 Dec 3;23(1):87.

Rodrigues DC, Taba M, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2003;74(9):1361-7.

Rovai ES, Souto ML, Ganhito JA, Holzhausen M, Chambrone L, Pannuti CM. Efficacy of local antimicrobials in the non-surgical treatment of patients with periodontitis and diabetes: a systematic review. *J Periodontol.* 2016;87(12):1406-17. doi: 10.1902/jop.2016.160214.

Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2017;45(2):138-49. doi: 10.1111/jcpe.12808

Saxena M, Srivastava N, Banerjee M. Association of IL-6, TNF- α and IL-10 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep.* 2013;40(11):6271-9. doi: 10.1007/s11033-013-2739-4

Schaper F, Rose-John S. Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26(5):475-87. doi: 10.1016/j.cytogfr.2015.07.004.

Schmict MI, Duncan BB, Haffmann JF, Moura L, Malta DC, Carvalho RMSV. Prevalência de diabetes e hipertensão no Brasil baseada em inquérito de morbidade auto-referida, Brasil, 2006. *Rev Saúde Pública.* 2009;43(Supl 2):74-82.

Schroder K, Sweet MJ, Hume DA. Signal integration between IFN γ and TLR signaling pathways in macrophages. *Immunobiology.* 2006;211(6-8):511-24.

Serhan CN. Systems approach with inflammatory exudates uncovers novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008;79(3-5):157-163. doi: 10.1016/j.plefa.2008.09.012.

Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol.* 2008;153:S200-15. 10.1038/sj.bjp.0707489

Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, Arita M. Resolvins, decosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their aspirin triggered endogenous epimers: an overview of their protective roles in catabasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2004;73(3-4):155-72.

Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acids transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med.* 2002;196(8):1025-37.

Shapira L, Van Dyke TE, Hart TC. A localized absence of interleukin-4 triggers periodontal disease activity. *Med Hypotheses.* 1992;39(4):319-22.

Sima C, Van Dyke TE. Therapeutic targets for management of periodontitis and diabetes. *Curr Pharm Des.* 2016;22(15):2216-37.

Simão ANC, Godeny P, Lozovoy MAB, Dichi JB, Dichi I. Effect of n-3 fatty acids in glycemic and lipid profiles, oxidative stress and total antioxidant capacity in patients with the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2010;54(5):463-9.

Sjöholm A, Nyström T. Inflammation and the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006 Jan-Feb;22(1):4-10. doi: 10.1002/dmrr.568.

Stadler AF, Angst PD, Arce RM, Gomes SC, Oppermann RV, Susin C. Gingival crevicular fluid levels of cytokines chemokines in chronic periodontitis. A meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2016 Sep;43(9):727-45. doi: 10.1111/jcpe.12557.

Tamashiro NS, Duarte PM, Miranda TS, Maciel SS, Figueiredo LC, Favero M, et al. Amoxicillin plus metronidazole therapy for patients with periodontitis and type 2 diabetes: a two-year randomized controlled trial. *J Dent Res*. 2016;95(7):829-36. doi: 10.1177/0022034516639274.

Tarique AA, Logan J, Thomas E, Holt PG, Sly PD, Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2015 Nov;53(5):676-88. doi: 10.1165/rcmb.2015-0012OC.

Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2013;40(11):1025-35. doi: 10.1111/jcpe.12155.

Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003;82(2):82-90. doi: 10.1177/154405910308200202.

White GE, Iqbal AJ, Greaves DR. CC chemokine receptors and chronic inflammation—Therapeutic opportunities and pharmacological challenges. *Pharmacol Rev*. 2013;65(1):47-89. doi: 10.1124/pr.111.005074.

Woodman RJ, Mori TA, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Beilin LJ. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(5):1007-15.