



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

CÁSSIA FERNANDES ARAUJO

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA DE ÁCIDOS
GRAXOS POLI-INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA
EM BAIXA DOSAGEM NO TRATAMENTO DE
PERIODONTITE AGRESSIVA GENERALIZADA: estudos
clínicos controlados randomizados**

2020

CÁSSIA FERNANDES ARAUJO

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA DE ÁCIDOS GRAXOS
POLI-INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA EM BAIXA
DOSAGEM NO TRATAMENTO DE PERIODONTITE AGRESSIVA
GENERALIZADA: estudos clínicos controlados randomizados**

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 clínicos e ensaios randomizados em Periodontia e Implantodontia.

Orientador: Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria

São José dos Campos

2020

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2020]. 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).

Araujo, Cássia Fernandes

Avaliação da suplementação diária de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e aspirina em baixa dosagem no tratamento de periodontite agressiva generalizada: estudos clínicos controlados randomizados / Cássia Fernandes Araujo. - São José dos Campos : [s.n.], 2020.

76 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, 2020.

Orientador: Mauro Pedrine Santamaria.

1. Ácidos graxos ômega-3. 2. Aspirina. 3. Bolsas residuais. 4. Imunomodulação. 5. Periodontite agressiva. I. Santamaria, Mauro Pedrine, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Assist. Dra. Andréa Carvalho de Marco

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Assoc. José Benedito Oliveira Amorim

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Assoc. Luciana Macchion Shaddox

Universidade do Kentucky (UK)

Faculdade de Odontologia

Lexington, EUA

Prof. Assoc. Renato Corrêa Viana Casarin

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Piracicaba

São José dos Campos, 01 de abril de 2020.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Margarida e Celso, pelos valiosos ensinamentos e por apoiarem minhas escolhas.

Ao meu irmão, Celsinho, pelo companheirismo e por ser meu exemplo de determinação.

Aos meus maiores incentivadores, meus queridos avós Adolpho e Lillian (in memoriam), sem os quais certamente teria sido muito mais difícil chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp, em especial ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, onde construí toda minha vida acadêmica, desde a graduação até o doutorado.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal.

À professora Associada Juliana Campos Junqueira, por ter me apresentado ao universo da ciência e ter me orientado com muito zelo na minha primeira iniciação científica.

Aos docentes da disciplina de Periodontia do Instituto de Tecnologia de São José dos Campos/ICT Unesp, Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardini, Profa. Assist. Dra. Andréa Carvalho de Marco e Prof. Dr. Warley David Kerbaudy, pelo conhecimento compartilhado.

Ao meu orientador, Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria, pela paciência e suporte ao longo desses 7 anos de convivência. Agradeço a confiança em mim depositada desde a iniciação científica e por todas as oportunidades que me foram proporcionadas.
Obrigada por ter me ensinado a ser pesquisadora!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, através da concessão de bolsa de doutorado pelo período de 01/02 - 30/09/2017.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de doutorado (processo FAPESP 2017/05101-0) no período de 01/10/2017 - 31/01/2020 e de iniciação científica (Tayná Lopes - processo FAPESP 2018/02161-5) no período de 01/04 - 31/12/2018.

À Marcinha, Valéria e Jacqueline pelo apoio na clínica e em questões burocráticas do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia.

Aos funcionários da Seção Técnica de Triage e Documentação e da Seção Técnica de Pós-graduação do ICT/Unesp.

Ao Prof. Assoc. Renato Casarin (FOP/Unicamp) e seus orientados, Camila Stolf, Hélvis Paz, Mabelle Monteiro e Thiago Rangel, por terem gentilmente me recebido e me ensinado o passo-a-passo das análises laboratoriais das amostras microbiológicas e imunológicas deste estudo.

À aluna de iniciação científica, Tayná Lopes, por ter me auxiliado no tratamento e acompanhamento dos pacientes do primeiro estudo.

Aos meus amigos de pós-graduação, Victória Lima, Tatiane Ramos, Thiago Lazzari, Marcelo Zupardo, Camila Lopes, Camilla Magnoni, Daniella Bernardo e Carlos Henrique Sales, pela companhia.

Às minhas grandes amigas, Naira Andere e Nídia Castro, por terem sido peças fundamentais na execução deste trabalho e durante a pós-graduação. Obrigada pela ajuda e carinho!

Aos meus queridos amigos, Amanda Rossato, Camila Silveira, Cristhian Gómez, Laís Ferraz e Felipe Neves por tornarem meus dias mais felizes.

À minha amiga-irmã, Manuela Miguel, por sempre me apoiar e estar disposta a me ajudar em qualquer situação.

Ao meu marido, Rogério Rangel, pela compreensão, apoio e paciência.

"Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino".

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 EFEITO DA TERAPIA DE MODULAÇÃO DO HOSPEDEIRO POR MEIO DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA DE ÁCIDOS GRAXOS POLI- INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA NA FASE NÃO- CIRÚRGICA DO TRATAMENTO DE PERIODONTITE AGRESSIVA GENERALIZADA: estudo clínico controlado randomizado	18
2.1 PROPOSIÇÃO	18
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
2.2.1 População-alvo.....	19
2.2.2 Tamanho da amostra	19
2.2.3 Critérios de inclusão.....	19
2.2.4 Critérios de não-inclusão	20
2.2.5 Critérios de saída.....	21
2.2.6 Delineamento do estudo	21
2.2.7 Terapia inicial	21
2.2.8 Sequência de randomização, ocultamento e cegamento	22
2.2.9 Tratamento.....	22
2.2.10 Medidas clínicas.....	23
2.2.11 Análise imunológica	24
2.2.12 Análise estatística	25
2.3 RESULTADOS.....	25
2.3.1 Dados clínicos e demográficos.....	27
2.3.2 Análise imunológica	31

2.3.3 Análises de correlação.....	34
2.4 DISCUSSÃO	37
2.5 CONCLUSÃO	41
3 EFEITO DA TERAPIA DE MODULAÇÃO DO HOSPEDEIRO POR MEIO DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA DE ÁCIDOS GRAXOS POLI- INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA NA FASE CIRÚRGICA DO TRATAMENTO DE PERIODONTITE AGRESSIVA GENERALIZADA: estudo clínico controlado randomizado	42
3.1 PROPOSIÇÃO	42
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.2.1 População-alvo.....	42
3.2.2 Tamanho da amostra	43
3.2.3 Critérios de inclusão.....	43
3.2.4 Critérios de não-inclusão	44
3.2.5 Critérios de saída.....	44
3.2.6 Delineamento do estudo	44
3.2.7 Terapia inicial	45
3.2.8 Seleção dos sítios com bolsa residual.....	45
3.2.9 Sequência de randomização, ocultamento e cegamento	46
3.2.10 Tratamento.....	46
3.2.11 Pós-operatório.....	47
3.2.12 Medidas clínicas.....	48
3.2.13 Análise imunológica	49
3.2.14 Avaliação radiográfica.....	50
3.2.15 Avaliações centradas no paciente	50
3.2.16 Análise estatística	52
3.3 RESULTADOS.....	53
3.3.1 Dados clínicos e demográficos.....	53

3.3.2 Análise imunológica	58
3.3.3 Análises de correlação.....	59
3.4 DISCUSSÃO	61
3.5 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	75

Araujo CF. Avaliação da suplementação diária de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e aspirina em baixa dosagem no tratamento de periodontite agressiva generalizada: estudos clínicos controlados randomizados [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2020.

RESUMO

A destruição periodontal resulta principalmente da resposta inflamatória exacerbada do hospedeiro frente ao desafio bacteriano. Por isso, pesquisas envolvendo a modulação da resposta do hospedeiro têm sido desenvolvidas com o objetivo de facilitar a resolução da inflamação, bem como promover reparação tecidual e estabilidade periodontal. Recentemente, o uso de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 (AGP Ω -3) e ácido acetilsalicílico (AAS) foi relacionado à produção de mediadores lipídicos mais bioativos e à melhores resultados clínicos no tratamento de periodontite crônica. Desse modo, pesquisas envolvendo modulação das respostas inflamatórias de portadores de periodontite agressiva (PAg) podem ser de grande valia. Assim, o objetivo dos presentes estudos clínicos controlados randomizados foi avaliar a utilização da suplementação de 900 mg AGP Ω -3 e 100 mg de AAS por 180 dias como adjuvantes ao tratamento de PAg generalizada (PAgG). (1) Selecionou-se 38 pacientes com PAgG os quais receberam debridamento subgengival associado a AGP Ω -3 e AAS (n=19) ou placebo (n=19). Ambos os grupos apresentaram diminuição ($p<0,05$) em todos os parâmetros clínicos avaliados, bem como em IL-1 β , sem diferença entre os tratamentos ($p>0,05$). O nível de TIMP-2 diminuiu significativamente no grupo controle, porém se manteve estável no grupo teste. Concluiu-se que a nova terapia proposta não trouxe benefícios clínicos no tratamento não-cirúrgico de PAgG. (2) Selecionou-se 34 pacientes com PAgG previamente submetidos à terapia básica que apresentavam bolsas residuais e foram submetidos à cirurgia de acesso para raspagem e alisamento radicular associado a AGP Ω -3 e AAS (n=17) ou placebo (n=17). Após 6 meses, ambos os grupos obtiveram diminuição na PS ($p<0,05$), porém somente o grupo teste obteve ganho no NIC na comparação intergrupo ($p=0,02$), assim como apresentou menor recessão gengival ($p=0,03$), diminuição da hipersensibilidade dentinária ($p=0,01$), menor consumo de analgésicos ($p=0,02$) e diminuição intragrupo de IL-10 ($p<0,05$). Concluiu-se que a nova terapia proposta trouxe benefícios clínicos no tratamento de bolsas residuais de pacientes com PAgG.

Palavras-chave: Ácidos Graxos Ômega-3. Aspirina. Bolsas residuais. Imunomodulação. Periodontite Agressiva.

Araujo CF. Evaluation of omega-3 polyunsaturated fatty acids daily supplementation plus low-dose aspirin to treat generalized aggressive periodontitis: randomized controlled clinical trials [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2020.

ABSTRACT

Periodontal destruction results mainly from the exacerbated host inflammatory response to the bacterial challenge. For this reason, research involving the modulation of host response has been developed aiming to facilitate the resolution of inflammation, as well as to promote tissue repair and periodontal stability. Recently, the use of omega-3 polyunsaturated fatty acids (Ω -3 PUFA) and low-dose acetylsalicylic acid (ASA) was related to the production of enhanced lipidic mediators and to better clinical outcomes in the treatment of chronic periodontitis. Thus, the aim of the present randomized controlled clinical trials was to evaluate the use of 900 mg Ω -3PUFA and 100 mg ASA for 180 days as adjuvants to the treatment of generalized aggressive periodontitis (GAgP). (1) Thirty-eight GAgP patients were submitted to subgingival debridement associated with Ω -3 PUFA and ASA (n=19) or placebo (n=19). Both groups showed a statistically significant decrease ($p<0.05$) in all clinical parameters, as well as a decrease in IL-1 β , with no difference between treatments ($p>0.05$). The TIMP-2 level significantly decreased in the control group and remained stable in the test group. It was concluded that the proposed new therapy did not bring clinical benefits in the non-surgical treatment (NST) of GAgP. (2) Thirty-four GAgP patients previously submitted to NST with residual pockets were selected and underwent open flap debridement associated with Ω -3 PUFA 3 and ASA (n=17) or placebo (n=17). After 6 months, both therapies led to decreased PD ($p>0.05$), but only the test group had CAL gain in the intergroup comparison ($p=0,02$), as well as presented less gingival recession ($p=0,03$), decreased dentin hypersensitivity ($p=0,01$), lower consumption of analgesics ($p=0,02$) and significant intragroup reduction of IL-10 ($p<0.05$). It was concluded that the proposed new therapy brought clinical benefits in the surgical treatment of GAgP patients.

Keywords: Aggressive Periodontitis. Aspirin. Immunomodulation. Omega-3 fatty acids. Residual pockets.

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma condição associada a microrganismos anaeróbios gram-negativos específicos presentes no biofilme dental. Tais microrganismos, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*, produzem endotoxinas na forma de lipopolissacarídeos (LPS) que suscitam uma resposta imune sistêmica do hospedeiro, levando à destruição óssea e periodontal (Ebersole et al., 2013; Kantarci, Van Dyke, 2005; Gholizadeh et al., 2017). Dentre as formas de doença periodontal, a periodontite agressiva (PAg) se caracteriza por apresentar uma rápida taxa de progressão, afetando principalmente indivíduos jovens e sistemicamente saudáveis (Armitage, 2004). Pacientes diagnosticados com essa doença apresentam rápida perda de inserção e destruição óssea, tendendo para um quadro de edentulismo precoce (Aimetti et al., 2011).

A abordagem inicial do tratamento da PAg (atualmente denominada Periodontite grau C - Papapanou et al., 2018) objetiva desorganizar o biofilme e reduzir a microbiota patogênica (Griffiths et al., 2011) por meio da instrumentação radicular realizada por curetas ou instrumentos ultrassônicos (Wennstrom et al., 2005). Uma vez que os pacientes portadores de PAg respondem menos previsivelmente ao tratamento mecânico convencional (Teughels et al., 2014), frequentemente antibióticos sistêmicos são utilizados em associação à terapia não-cirúrgica (Teughels et al., 2014; Kestra et al., 2015; Andere et al., 2017; Araujo et al., 2019), promovendo maiores ganhos no nível de inserção clínica, maior redução na contagem de periodontopatógenos e maior redução nos níveis de citocinas inflamatórias quando comparada à terapia mecânica isoladamente (Casarin et al., 2012; Rabelo et al., 2015; Silva-Senem et al., 2013).

Por outro lado, o uso em grande escala de agentes antibióticos possui alguns pontos negativos, como a possibilidade de impulsionar o desenvolvimento de uma microbiota periodontal resistente (Van Winkelhoff et al., 2005; Ardila et al., 2010; Rams et al., 2014; Sgolastra et al., 2012) e também de suscitar mudanças permanentes na microbiota intestinal, tornando os indivíduos mais susceptíveis a outras doenças, como doença inflamatória intestinal, alergias e asma (Blaser, 2011). Deve-se destacar também que mesmo após a terapia básica ter sido realizada em associação a antimicrobianos, ainda podem persistir sítios doentes, chamados de bolsas residuais. Esses sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm e sangramento são tidos como um fator de risco para perda de inserção adicional (Renvert, Persson 2002; Matulienė et al., 2008) e determinam a necessidade de retratamento (Del Peloso Ribeiro et al., 2008; Ribeiro Edel et al., 2009). Desta forma, o estabelecimento de novos protocolos terapêuticos se faz necessário.

Atualmente, postula-se que a destruição periodontal resulta principalmente da resposta inflamatória exacerbada do hospedeiro frente ao desafio bacteriano. Por isso, pesquisas envolvendo a modulação da resposta do hospedeiro têm sido desenvolvidas com o objetivo de facilitar a resolução da inflamação, bem como promover reparação tecidual e estabilidade periodontal (El-Sharkawy, 2010). Além disso, estudos demonstram que a inflamação por si só pode contribuir para a seleção e manutenção de microrganismos periodontopatogênicos nas bolsas periodontais (Freire, Van Dyke, 2013). Sendo assim, o controle do processo inflamatório poderia por si só contribuir para a redução desses microrganismos.

Nesse contexto, o conceito da terapia de modulação do hospedeiro (TMH) tem sido aplicado adicionalmente à terapia periodontal convencional em periodontite crônica. Diferentes agentes foram avaliados como moduladores do hospedeiro, dentre eles anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) (Paquette,

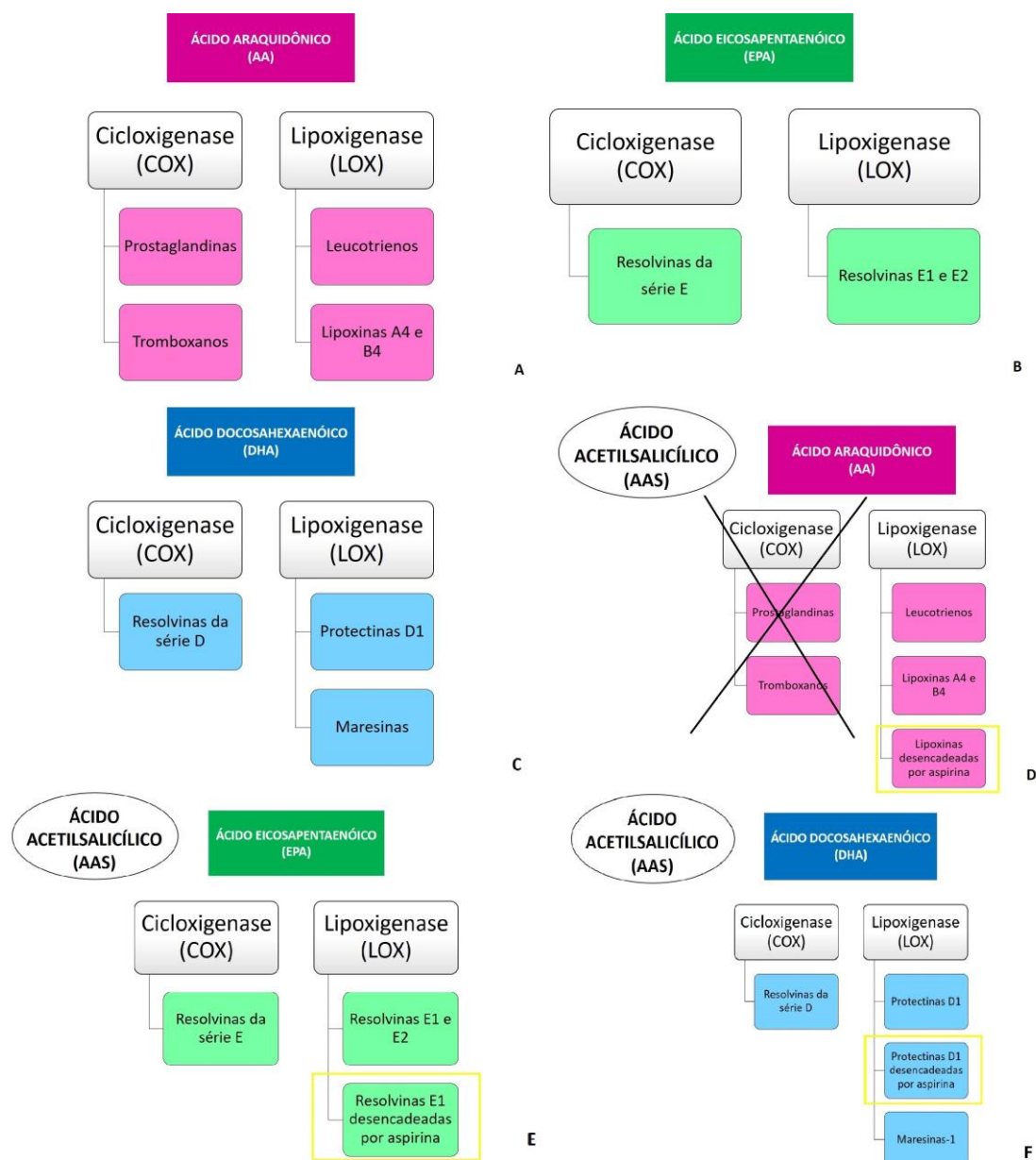
Williams, 2000; Azoubel et al., 2008)), tetraciclinas de baixa dosagem (Golub et al., 1995; Novak et al., 2008) e bisfosfonatos (Lane et al., 2005). Entretanto, esses agentes possuem limitações e podem induzir efeitos adversos quando utilizados por um longo período na TMH (Novak et al., 2002; Ciancio SG, 2002; Preshaw et al., 2004; El-Sharkawy et al., 2010).

Estudos demonstram que os ácidos graxos poli-insaturados (AGP) de ômega-3 (Ω -3) (ácido eicosapentaenoico - EPA e ácido docosahexaenoico - DHA) possuem valor terapêutico, desempenhando ações anti-inflamatórias e protetivas no tratamento de artrite reumatoide, fibrose cística, colite ulcerativa, asma, aterosclerose, câncer, doença cardiovascular e periodontite (Serhan et al., 2008a,b). À partir da ingestão de AGP Ω -3, os neutrófilos, que inicialmente liberam mediadores pró-inflamatórios, podem modificar o perfil dos produtos liberados passando a produzir mediadores lipídicos que funcionarão como agonistas na limitação do processo inflamatório, chamados de resolvinas e protectinas (Serhan et al., 2002, 2004, 2008a,b; Hong et al., 2003), favorecendo a resolução da inflamação. AGP Ω -3 diminuem a quantidade de ácido araquidônico (AA) disponível nas células em resposta ao LPS bacteriano e, por consequência, diminuem a produção de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) (Serhan, Chiang, 2008; Calder, 2006), os quais são responsáveis pela intensidade e duração da resposta inflamatória (Calder, 2008) (Figura 1A-C).

O ácido acetilsalicílico (AAS), um fármaco do grupo dos AINES, possui a capacidade de bloquear a metabolização do AA pela via da cicloxigenase (COX) (Arita et al., 2005). Ademais, foi demonstrado que, além de induzir a produção de lipoxinas desencadeadas por aspirina, que são mais bioativas do que lipoxinas usualmente produzidas pela degradação do AA via lipoxigenase (LOX) e possuem melhores propriedades resolutivas da inflamação, na presença de AGP

Ω -3 o AAS induz a produção de resolvinas e protectinas desencadeadas por aspirina (Van Dyke, Serhan, 2003) (Figura 1D-F).

Figura 1 - Esquema da atuação de AGP Ω -3 e AAS na degradação do AA



Legenda: A) O ácido araquidônico (AA) pode ser degradado pelas vias COX e LOX, produzindo eicosanoides e lipoxinas. B, C) Na presença de EPA e DHA ocorre a produção de resolvinas das séries E e D, protectinas D1 e maresinas. D) Na presença de AAS, a via COX é bloqueada e a via LOX produz lipoxinas desencadeadas por aspirina. E, F) Quando o AAS está presente juntamente com EPA e DHA, são produzidas resolvinas e protectinas desencadeadas por aspirina.

Fonte: Elaborado por Nídia Castro.

Estudos clínicos randomizados realizados para se avaliar o efeito da suplementação diária de Ω -3 e AAS como adjuvantes a RAR no tratamento de periodontite crônica revelaram diminuição na profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção significativamente maiores em relação ao grupo submetido somente à raspagem subgengival (El-Sharkawy et al., 2010; Deore et al., 2014; Elwakeel, Hazaa, 2015). Naqvi et al. (2014) realizaram um estudo clínico randomizado para avaliar a influência da suplementação diária de Ω -3 (2 g) e AAS (81 mg) na periodontite crônica sem que terapias clínicas fossem aplicadas e os resultados mostraram melhora significativa nos parâmetros clínicos e inflamatórios locais no grupo teste em comparação com o grupo placebo. Esses estudos demonstraram que a utilização de Ω -3 associado ao AAS pode trazer benefícios adicionais quando associados à terapia periodontal mecânica.

Recentemente, Yang et al. (2019) relataram que a administração de Ω -3 e AAS foi capaz de inibir a presença de TNF- α (fator de necrose tumoral- α) e IL-1 β (interleucina-1 β) no soro de ratos, bem como promover ganho de osso alveolar, segundo uma análise histomorfométrica. Griel et al. (2007) demonstraram em um estudo clínico que há uma relação inversamente proporcional entre o aumento de Ω -3 na dieta e a diminuição dos níveis de NTx (telopeptídeos aminoterminais do colágeno tipo I) sérico, um importante marcador de reabsorção óssea originado da clivagem proteolítica do colágeno ósseo por osteoclastos (Clemens et al., 1997).

Estudos *in vitro* sugerem que pacientes com PAg podem se beneficiar da suplementação de Ω -3. Fredman et al. (2011) relataram que o contato com a resolvina foi capaz de restaurar a atividade fagocitária deficiente de células provenientes de pacientes portadores de PAg localizada. A restituição da normalidade fagocitária também foi relatada por Wang et al. (2016) quando

essas células foram colocadas em contato com outro mediador da resolução da inflamação proveniente do Ω -3 recentemente descoberto, a maresina.

No entanto, ainda não há estudos clínicos randomizados na literatura avaliando o efeito da suplementação diária de ômega-3 e ácido acetilsalicílico como adjuvantes ao tratamento de pacientes com periodontite agressiva generalizada.

2 EFEITO DA TERAPIA DE MODULAÇÃO DO HOSPEDEIRO POR MEIO DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA NA FASE NÃO-CIRÚRGICA DO TRATAMENTO DE PERIODONTITE AGRESSIVA GENERALIZADA: estudo clínico controlado randomizado

2.1 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito clínico e imunológico da suplementação diária de 900 mg de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e de 100 mg de ácido acetilsalicílico por um período de 180 dias como adjuvantes ao debridamento periodontal ultrassônico de boca toda no tratamento de periodontite agressiva generalizada.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia do presente estudo seguiu as normas do CONSORT-STATEMENT 2010 (Moher et al., 2010) e do SPIRIT 2013 (Chan et al., 2013) para estudos clínicos randomizados, tendo sido conduzido de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, revisada em 2013. O protocolo do estudo foi registrado no *ClinicalTrials.gov* (NCT03093246).

2.2.1 População-alvo

A população foi constituída de pacientes com diagnóstico de Periodontite Agressiva Generalizada (PAgG), atualmente denominada Periodontite Grau C (Papapanou et al., 2018), recrutados no Instituto de Ciência e Tecnologia – Unesp, em São José dos Campos/SP. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da mesma instituição (CAAE 66096817.3.0000.0077; ANEXO A).

2.2.2 Tamanho da amostra

O cálculo do tamanho da amostra do estudo foi baseado nos resultados obtidos por um estudo anterior que avaliou o efeito da suplementação diária de ômega-3 e aspirina em baixa dosagem no tratamento de periodontite crônica (El-Sharkawy et al., 2010). Considerando $\alpha=5\%$ e $\beta=20\%$ (*power* de 80%) para detectar uma diferença média intergrupo de ao menos 1,2 mm na profundidade de sondagem de bolsas maiores que 5 mm, com um desvio padrão de 0,8 mm, 16 pacientes seriam necessários em cada grupo. Para compensar possíveis atrições, foram incluídos 19 pacientes por grupo, obtendo-se um *power* > 80%.

2.2.3 Critérios de inclusão

Indivíduos maiores de 18 anos de idade; apresentar Periodontite

Agressiva Generalizada, atualmente Periodontite Grau C (Papapanou et al., 2018), com perda óssea e de inserção em pelo menos outros três dentes permanentes além de incisivos e primeiros molares, segundo Armitage (1999) e American Academy of Periodontology (2015), com no mínimo seis dentes com ao menos uma bolsa periodontal ≥ 5 mm, com sangramento à sondagem, e mais dois dentes com ao menos uma bolsa ≥ 7 mm, também com sangramento à sondagem; quantidade de depósitos de biofilme incompatível com a severidade da doença; apresentar ao menos 20 dentes; apresentar boa saúde sistêmica; concordar em participar do estudo e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios (Conselho Nacional de Saúde - Resolução 466/2012 e Código de Ética Odontológica CFO-42/2003).

2.2.4 Critérios de não-inclusão

Pacientes com problemas sistêmicos (alterações cardiovasculares, discrasias sanguíneas, imunodeficiência - ASA III/IV/V - Mupparu, Singer, 2018) que contraindiquem o procedimento periodontal; histórico de gastrite ou úlceras no trato gastrointestinal; ter passado por tratamento periodontal nos últimos 12 meses; ter feito uso de antibióticos e anti-inflamatórios nos últimos seis meses; fumar mais do que 10 cigarros por dia; estar em período de gestação ou lactante; fazer uso crônico de medicações que podem alterar a resposta dos tecidos periodontais; ter indicação de profilaxia antibiótica para procedimentos odontológicos; histórico de alergia ao ácido acetilsalicílico e à frutos do mar; suplementação de ômega-3 previamente ao estudo.

2.2.5 Critérios de saída

Pacientes que, por qualquer motivo, fizerem uso de antibióticos e/ou anti-inflamatórios durante o período do estudo ou que voluntariamente decidirem abandonar a pesquisa.

2.2.6 Delineamento do estudo

Estudo do tipo clínico, controlado, randomizado, prospectivo, duplo-cego, de superioridade com acompanhamento de 6 meses.

2.2.7 Terapia inicial

Todos os pacientes foram submetidos a uma terapia inicial que consistiu na realização da adequação do meio bucal. Primeiramente, os pacientes receberam informações sobre o seu estado periodontal. Em seguida, foi realizada instrução de higiene oral, raspagem de cálculo supragengival, profilaxia e polimento coronário. A seguir, todos os dentes condenados foram extraídos e os que necessitam de tratamento endodôntico foram submetidos à primeira fase. Cavidades abertas foram escariadas e seladas com restauração provisória de cimento de ionômero de vidro e excessos de material restaurador foram removidos.

2.2.8 Sequência de randomização, ocultamento e cegamento

A randomização foi feita da seguinte forma: uma pessoa externa ao estudo gerou uma sequência aleatória em computador para definir a ordem de realização dos tratamentos (teste/controle) de acordo com o número de pacientes que comporiam a amostra. Essa sequência foi seguida à medida que os debridamentos foram executados. Os pesquisadores responsáveis pelo recrutamento (MS), tratamento (CA) e aferição dos parâmetros clínicos (NA) eram distintos, caracterizando o cegamento do estudo.

2.2.9 Tratamento

Os pacientes foram submetidos a debridamento periodontal ultrassônico de boca toda em estágio único (Wennström et al., 2005). Para tal, em uma única sessão sem tempo pré-definido, os pacientes foram anestesiados e receberam debridamento periodontal com equipamento de ultrassom (Cavitron – Dentsply, EUA) através de pontas específicas para raspagem subgengival (UI25KSF10S, Hu-Friedy, EUA). Todos os sítios apresentando bolsa periodontal foram instrumentados nesta sessão, a qual foi realizada por um único operador (CA) treinado, cego para a alocação dos pacientes e diferente do avaliador (NA). Caso houvesse alguma intercorrência que impedisse o debridamento de toda a boca, o procedimento deveria ser retomado no prazo máximo de 24 horas.

Imediatamente após o debridamento periodontal, os pacientes receberam os frascos de comprimidos, conforme a randomização:

- a) grupo teste (n=19): debridamento periodontal + 900 mg de AGP Ω -3 e 100 mg de AAS por 180 dias;
- b) grupo controle (n=19): debridamento periodontal + placebo.

A dose diária de 900 mg de AGP Ω -3 se constituiu de 540 mg de ácido eicosapentaenoico (EPA) e 360 mg de ácido docosahexaenóico (DHA), provenientes de 3g de óleo de peixe (Ômega-3 1000 mg, Catarinense Pharma, Brasil).

2.2.10 Medidas clínicas

Todas as medidas clínicas foram realizadas por um único pesquisador (NA) previamente calibrado para as medidas e cego em relação ao tratamento adjunto recebido pelos pacientes. O examinador foi calibrado através da mensuração da profundidade de sondagem e nível clínico de inserção de 10 pacientes duas vezes em um intervalo de 24 horas. Em seguida, as medidas foram submetidas ao teste de correlação intraclass e o examinador foi julgado calibrado por ter alcançado uma concordância de 92% entre as medidas.

As avaliações foram realizadas previamente ao tratamento (*baseline*), três e seis meses após. Os seguintes parâmetros foram avaliados: 1. índice de placa (IP) (Ainamo, Bay, 1976); 2. sangramento à sondagem (SS); 3. profundidade de sondagem (PS), medida do fundo da bolsa até a margem gengival; 4. nível de inserção clínica (NIC), medida do fundo da bolsa até a junção cimento-esmalte; 5. recessão gengival (RG), medida da junção cimento-esmalte até a margem gengival. Todas as medidas foram efetuadas com sonda periodontal Carolina do Norte (UNC - Hu-Friedy, EUA).

Para cada grupo, foram realizadas análises com os dados clínicos de boca toda e, posteriormente, as bolsas foram estratificadas em moderadas ($PS = 5-6 \text{ mm}$) e profundas ($PS \geq 7 \text{ mm}$). Adicionalmente, o número de pacientes que atingiram o *endpoint* do tratamento (até 4 bolsas com $PS \geq 5\text{mm}$), segundo Feres et al. (2012), foi calculado, bem como o número e a porcentagem de bolsas residuais com $PS \geq 5\text{mm}$ e sangramento.

2.2.11 Análise imunológica

Para análise das possíveis mudanças imunológicas produzidas pelos tratamentos, foram coletadas amostras de fluido crevicular gengival (GCF) de três sítios com bolsas moderadas e três sítios com bolsas profundas, provenientes de 30 pacientes (15 de cada grupo). As coletas foram realizadas no baseline, 3 e 6 meses após o tratamento. Para tal, os sítios de interesse eram isolados com roletes de algodão estéril, seguido de cuidadosa remoção do biofilme supragengival com o auxílio de uma cureta periodontal. Após, um cone de papel estéril era inserido na bolsa e mantido por 30 s (Hartoch et al., 1999). As amostras eram armazenadas em microtubos estéreis de acordo com o estrato (bolsa moderada ou profunda) contendo 300 μl de solução salina de fosfato (PBS) e armazenadas em freezer -20°C até o ensaio multiplex. O nível das seguintes citocinas foi mensurado no GCF: interleucinas (IL)-10, -1β , -6, proteína inflamatória de macrófago (MIP)-1 α , fator de necrose tumoral (TNF)- α , inibidores teciduais de metaloproteinase (TIMP)-1, -2, assim como metaloproteinases da matriz (MMP)-2 e -9. Foi utilizado o 10-plex kit de alta sensibilidade (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) de acordo com a instrução do fabricante. As amostras foram analisadas pela plataforma MAGpix

(MiraiBio, Alameda, CA, EUA e as concentrações de cada citocina (pg/ml) foram calculadas utilizando uma curva padrão de 5 parâmetros, no programa Xponet (Millipore Corporation).

2.2.12 Análise estatística

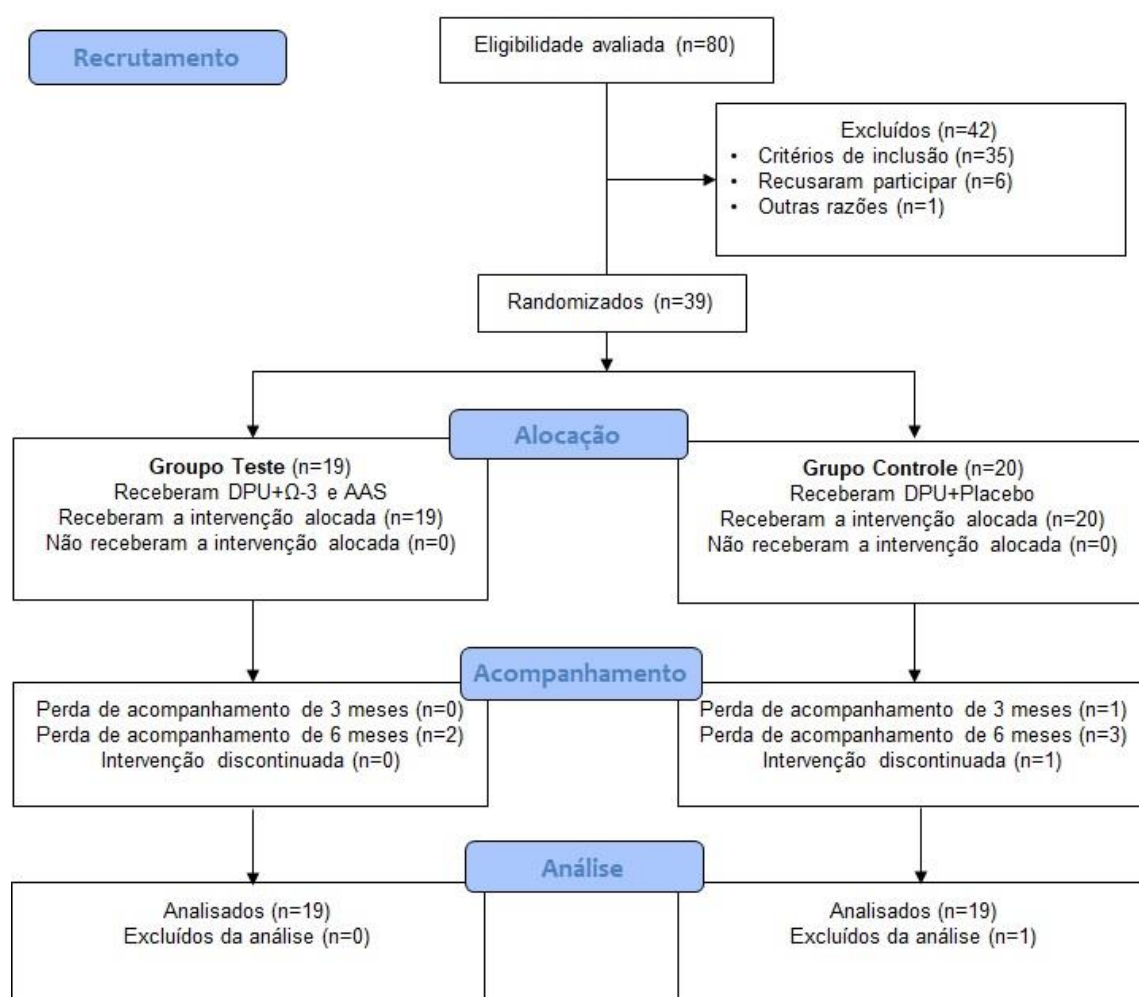
Média e desvio-padrão foram calculados para cada parâmetro. A distribuição normal foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados demográficos foram analisados pelo Teste-t para variáveis independentes. O teste qui-quadrado foi empregado na análise do gênero e do número de pacientes que atingiram o *endpoint* do tratamento. As diferenças entre as variáveis de boca toda, assim como as concentrações das citocinas, foram analisadas utilizando um Modelo de Equações Estimadas Generalizadas e as reduções foram avaliadas por Modelos Lineares Generalizados, ajustados para *baseline* quando indicado. O teste *post-hoc* aplicado para cada comparação por pares foi Bonferroni. As análises de correlação entre os dados clínicos e as citocinas foram realizadas pelo coeficiente de Pearson (dados com distribuição normal) ou pelo coeficiente de Spearman. A análise estatística foi realizada adotando-se nível de significância de 5%, utilizando os programas IBM SPSS e RStudio.

2.3 RESULTADOS

Foram realizados 39 tratamentos no período de ago/17 à jul/2019. Devido à perda de 1 paciente do grupo controle antes que o acompanhamento de

3 meses pudesse ser realizado, a análise estatística foi composta por dados de 38 pacientes, conforme demonstra o fluxograma do estudo (Figura 2).

Figura 2 - Fluxograma do estudo



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3.1 Dados clínicos e demográficos

Os dados iniciais dos participantes do estudo estão representados na Tabela 1. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em relação aos parâmetros clínicos iniciais de PS, NIC, SS e IP, bem como à idade, número de dentes e distribuição de homens e mulheres.

Tabela 1 - Dados clínicos e demográficos dos grupos no *baseline* (n=38)

Parâmetros	Teste (n=19)	Controle (n=19)	<i>p value</i>
Idade (anos)	32,84 ± 5,47	30,42 ± 5,79	0,19†
Gênero (m/f)	12/7	14/5	0,72§
Número de dentes	25,53 ± 2,41	25,95 ± 3,12	0,64†
PS (mm)	3,74 ± 0,15	3,88 ± 0,15	1*
NIC (mm)	4,01 ± 0,21	3,94 ± 0,17	1*
SS (%)	44,58 ± 3,72	54,11 ± 4,97	1*
IP (%)	26,3 ± 3,89	26,5 ± 3,17	1*

Legenda: m, masculino; f, feminino. PS, profundidade de sondagem; NIC, nível de inserção clínica; SS, sangramento à sondagem; IP, índice de placa. $p < 0,05$. *p value*, †Teste-t para variáveis independentes. § χ^2 . *ajustado pela correção de Bonferroni.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As médias dos parâmetros clínicos de boca toda durante os períodos de acompanhamento estão descritas na Tabela 2. Passados 3 meses do tratamento, foi observado que ambos os grupos obtiveram diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros de PS (mm), NIC (mm) e SS (%), sem

diferenças intergrupo, bem como ganho no NIC (mm). Ademais, nota-se a manutenção dos resultados aos 6 meses de acompanhamento. Os dois grupos apresentaram diminuição no acúmulo de biofilme (IP %) ao longo dos acompanhamentos, sem diferenças entre os tempos e grupos ($p > 0,05$). Porém, destaca-se que no *baseline* esse parâmetro já se encontrava em níveis relativamente baixos, compatíveis com saúde periodontal.

Tabela 2 - Média $\pm$ dp dos parâmetros clínicos de boca toda (n=38)

Parâmetro	Período	Teste (n=19)	Controle (n=19)	<i>p value</i>
PS (mm)	Baseline	3,74 $\pm$ 0,15 Aa	3,88 $\pm$ 0,15 Aa	1*
	3 meses	3,26 $\pm$ 0,13 Ab	3,38 $\pm$ 0,14 Ab	1*
	6 meses	3,25 $\pm$ 0,13 Ab	3,37 $\pm$ 0,14 Ab	1*
	PS (Δ)	0,49 $\pm$ 0,09 A	0,51 $\pm$ 0,09 A	0,94†
NIC (mm)	Baseline	4,01 $\pm$ 0,21 Aa	3,94 $\pm$ 0,17 Aa	1*
	3 meses	3,65 $\pm$ 0,21 Ab	3,58 $\pm$ 0,17 Ab	1*
	6 meses	3,64 $\pm$ 0,2 Ab	3,59 $\pm$ 0,17 Ab	1*
	NIC (Δ)	0,38 $\pm$ 0,07 A	0,43 $\pm$ 0,07 A	0,58†
SS (%)	Baseline	44,58 $\pm$ 3,72 Aa	54,11 $\pm$ 4,97 Aa	1*
	3 meses	27,41 $\pm$ 2,35 Ab	33,27 $\pm$ 3,72 Ab	1*
	6 meses	26,17 $\pm$ 2,18 Ab	31,77 $\pm$ 3,58 Ab	1*
	SS (Δ)	22,85 $\pm$ 2,56 A	21,97 $\pm$ 2,56 A	0,81†
IP (%)	Baseline	26,3 $\pm$ 3,89 Aa	26,5 $\pm$ 3,17 Aa	1*
	3 meses	24,14 $\pm$ 4,27 Aa	24,32 $\pm$ 3,72 Aa	1*
	6 meses	21,83 $\pm$ 3,77 Aa	22 $\pm$ 3,01 Aa	1*

Legenda: PS, profundidade de sondagem; NIC, nível de inserção clínica; SS, sangramento à sondagem; IP, índice de placa. Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG); Δ : Modelos Lineares Generalizados (MLG) com ajustes para *baseline*. Letras diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significantes; $p < 0,05$. *Ajustado pela correção de Bonferroni. †Teste-T para variáveis independentes.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 3 descreve a estratificação de bolsas moderadas (PS=5-6 mm) e profundas (PS>7 mm) em sítios não localizados em áreas de furca. Foi observada melhora estatisticamente significativa ($p<0,05$) intragrupo em todos os parâmetros avaliados aos 3 e 6 meses em relação ao *baseline*, porém sem diferença entre os grupos teste e controle ($p>0,05$).

Tabela 3 - Avaliação das bolsas não localizadas em áreas de furca (n=38)

Parâmetro	Período	Teste (n=19)	Controle (n=19)	p value
# bolsas moderadas (PS=5-6 mm)	Baseline	24,84 ± 3,07 Aa	29,63 ± 2,64 Aa	1*
	3 meses	13,88 ± 2,1 Ab	16,33 ± 2,59 Ab	1*
	6 meses	12 ± 2,18 Ab	15,52 ± 2,56 Ab	1*
	Redução (Δ)	14,73 ± 2 A	13,05 ± 2 A	0,56†
PS bolsas moderadas (PS=5-6 mm)	Baseline	5,32 ± 0,03 Aa	5,36 ± 0,27 Aa	1*
	3 meses	4,17 ± 0,15 Ab	4,10 ± 0,17 Ab	1*
	6 meses	4,06 ± 0,15 Ab	4,07 ± 0,18 Ab	1*
	Redução (Δ)	1,26 ± 0,16 A	1,29 ± 0,16 A	0,95†
NIC bolsas moderadas	Baseline	5,53 ± 0,09 Aa	5,42 ± 0,04 Aa	1*
	3 meses	4,68 ± 0,18 Ab	4,31 ± 0,2 Ab	1*
	6 meses	4,48 ± 0,18 Ab	4,28 ± 0,21 Ab	1*
	NIC (Δ)	1,07 ± 0,15 A	1,22 ± 0,15 A	0,51†
# bolsas profundas (PS≥7 mm)	Baseline	11,26 ± 2,11 Aa	11,12 ± 2,09 Aa	1*
	3 meses	4,88 ± 1,77 Ab	4,73 ± 1,42 Ab	1*
	6 meses	4,96 ± 1,74 Ab	4,82 ± 1,48 Ab	1*
	Redução (Δ)	6,46 ± 1 A	6,42 ± 1 A	0,97†
PS bolsas profundas (PS≥7 mm)	Baseline	7,67 ± 0,23 Aa	7,69 ± 0,26 Aa	1*
	3 meses	5,65 ± 0,24 Ab	5,67 ± 0,34 Ab	1*
	6 meses	5,53 ± 0,28 Ab	5,54 ± 0,35 Ab	1*
	Redução (Δ)	2,24 ± 0,38 A	1,92 ± 0,38 A	0,56†
NIC bolsas profundas	Baseline	7,88 ± 0,22 Aa	7,15 ± 0,27 Aa	1*
	3 meses	6,1 ± 0,19 Ab	5,96 ± 0,37 Ab	1*
	6 meses	5,97 ± 0,37 Ab	5,84 ± 0,38 Ab	1*
	NIC (Δ)	1,92 ± 0,34 A	1,85 ± 0,34 A	0,9†

Legenda: PS, profundidade de sondagem; NIC, nível de inserção clínica. Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG); Δ : Modelos Lineares Generalizados (MLG) com ajuste para *baseline*. Letras

diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significantes; $p < 0,05$. *Ajustado pela correção de Bonferroni. †Teste-T para variáveis independentes. Fonte: Elaborado pelo autor.

Como pode ser visto na Tabela 4, foram observadas diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os dados iniciais e os períodos pós-operatórios de 3 e 6 meses nos parâmetros de número e porcentagem de bolsas com $PS \geq 5$ mm e sangramento à sondagem, sem diferenças intergrupo ($p > 0,05$). No entanto, somente no grupo teste houve diminuição significativa ($p < 0,05$) da média de PS (mm) desses sítios.

Tabela 4 - Bolsas residuais ($PS \geq 5$ mm e sangramento à sondagem) (n=38)

Parâmetro	Período	Teste (n=19)	Controle (n=19)	p value
# sítios com $PS \geq 5$ mm por paciente	Baseline	46,79 $\pm$ 6,17 Aa	50,79 $\pm$ 5,03 Aa	1*
	3 meses	29,21 $\pm$ 5,13 Ab	30,15 $\pm$ 4,9 Ab	1*
	6 meses	28,05 $\pm$ 5,21 Ab	31,47 $\pm$ 4,8 Ab	1*
	Redução (Δ)	19,34 $\pm$ 3,32 A	19,34 $\pm$ 3,32 A	1†
Média da PS de sítios ≥ 5 mm por paciente	Baseline	5,94 $\pm$ 0,09 Aa	6 $\pm$ 0,11 Aa	1*
	3 meses	5,74 $\pm$ 0,1 Aa	5,78 $\pm$ 0,17 Aa	1*
	6 meses	5,65 $\pm$ 0,1 Ab	5,8 $\pm$ 0,17 Aa	1*
	Redução (Δ)	0,35 $\pm$ 0,07 A	0,36 $\pm$ 0,07 A	0,96†
% sítios com $PS \geq 5$ mm por paciente	Baseline	30,64 $\pm$ 4,06 Aa	32,74 $\pm$ 3,3 Aa	1*
	3 meses	19,11 $\pm$ 3,3 Ab	19,77 $\pm$ 3,04 Ab	1*
	6 meses	18,39 $\pm$ 3,33 Ab	20,61 $\pm$ 2,99 Ab	1*
	Redução (Δ)	12,6 $\pm$ 2,15 A	12,43 $\pm$ 2,15 A	0,95†

Legenda: PS, profundidade de sondagem. Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG); Δ : Modelos Lineares Generalizados (MLG) com ajuste para *baseline*. Letras diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significantes; $p < 0,05$. *Ajustado pela correção de Bonferroni. †Teste-T para variáveis independentes.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme a Tabela 5, não houve diferenças intergrupo em relação ao número de pacientes que atingiram o *endpoint* do tratamento (≤ 4 sítios com PS ≥ 5 mm) passados 6 meses dos procedimentos.

Tabela 5 - Número de pacientes que atingiram ou não o *endpoint* do tratamento após seis meses, segundo Feres et al. (2012)

	Teste (n=19)		Controle (n=19)		<i>p value</i>
Considerando todos os sítios	SIM/NÃO	2/17	SIM/NÃO	1/18	0,54
Excluindo sítios localizados em áreas de furca	SIM/NÃO	4/15	SIM/NÃO	4/15	1

Legenda: *p value*: χ^2 ; $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

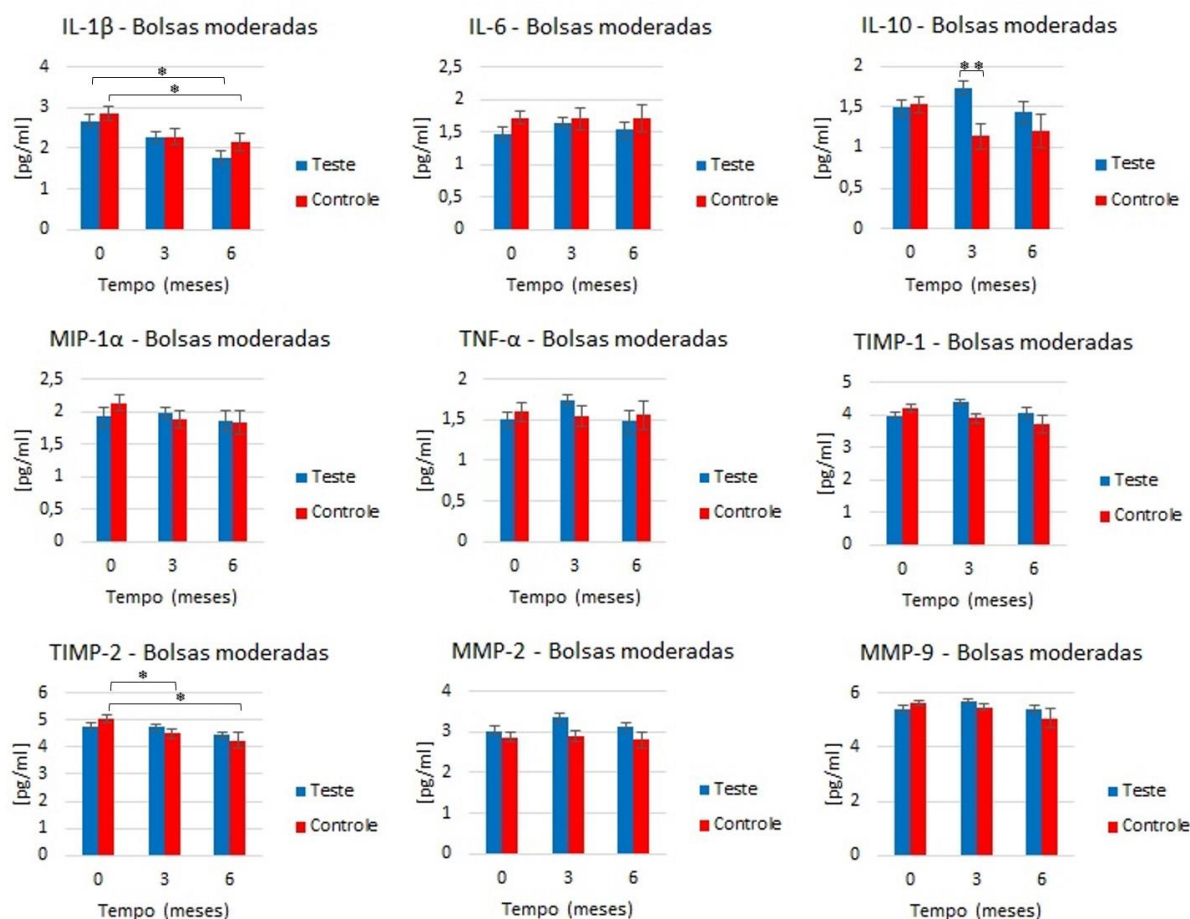
2.3.2 Análise imunológica

O exsudato inflamatório (GCF) coletado separadamente de bolsas moderadas e profundas no *baseline*, 3 e 6 meses após os tratamentos de 15 pacientes de cada grupo foi submetido a um ensaio multiplex.

A análise de bolsas moderadas (PS=4-5 mm) (Figura 3) mostrou que a concentração (pg/ml) de IL-1 β diminuiu estatisticamente ($p < 0,05$) entre o início e o final dos acompanhamentos, em ambos os grupos, sem diferença entre os mesmos ($p > 0,05$). No grupo controle, a concentração (pg/ml) de IL-10 em bolsas moderadas foi significativamente menor ($p = 0,027$) aos 3 meses em comparação ao grupo teste, porém, sem diferenças intragrupo ($p > 0,05$). Em

relação ao biomarcador TIMP-2, foi observado que, em bolsas moderadas, a sua concentração (pg/ml) se manteve estável ($p>0,05$) ao longo dos 6 meses no grupo teste, enquanto que no controle houve redução estatisticamente significativa entre 0 e 3 e entre 0 e 6 meses ($p<0,05$).

Figura 3 - Concentração (pg/ml) de citocinas em bolsas moderadas ao longo dos acompanhamentos (n=30)

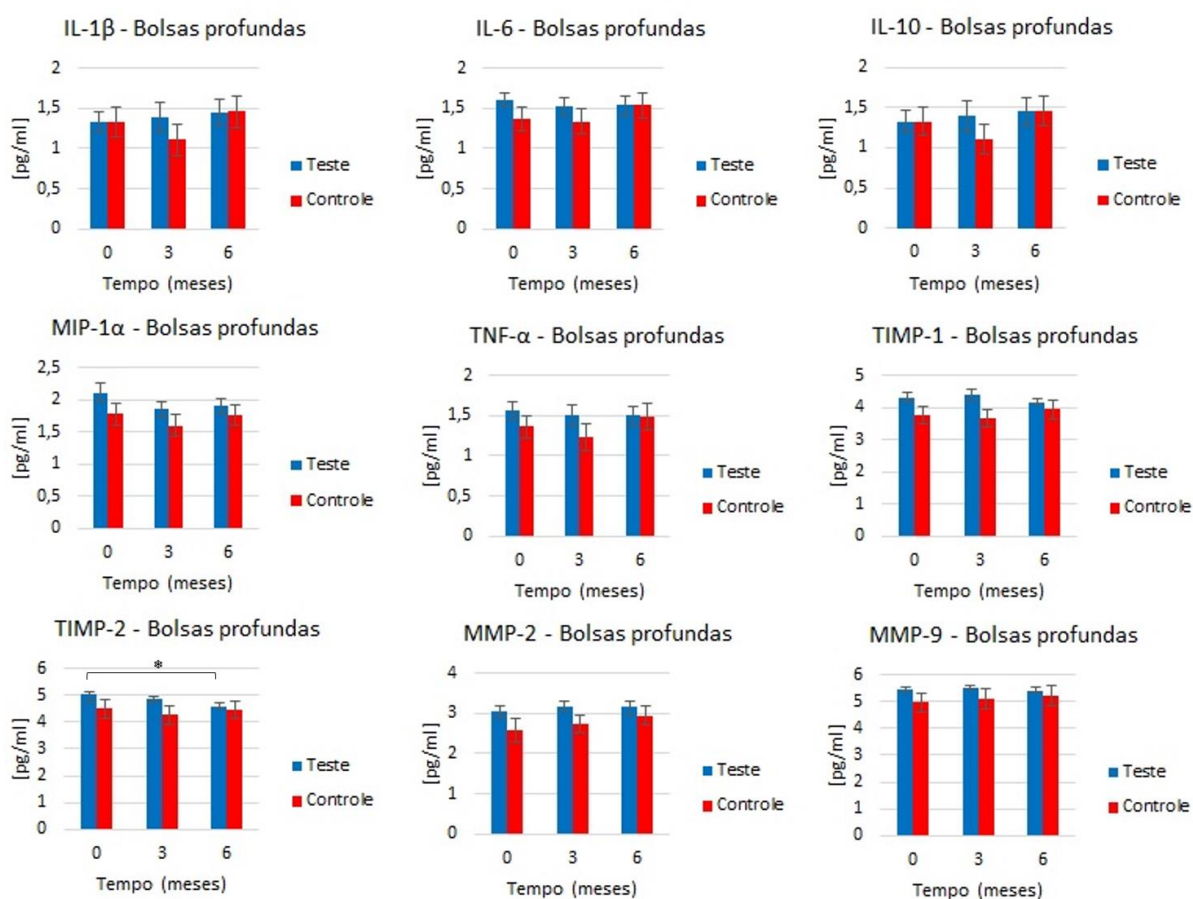


Legenda: *diferença significativa intragrupo ($p<0,05$); **diferença significativa intergrupo ($p<0,05$). Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG), com ajuste para *baseline* quando indicado.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando as bolsas profundas ($PS \geq 7$ mm) foram analisadas (Figura 4), evidenciou-se que somente no grupo teste houve diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) da concentração (pg/ml) de TIMP-2 entre 0 e 6 meses, sem diferenças intergrupo ($p > 0,05$).

Figura 4 - Concentração (pg/ml) de citocinas em bolsas profundas ao longo dos acompanhamentos (n=30)



Legenda: *diferença significativa intragrupo ($p < 0,05$); **diferença significativa intergrupo ($p < 0,05$). Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG), com ajuste para *baseline* quando indicado.

Fonte: Elaborado pelo autor.

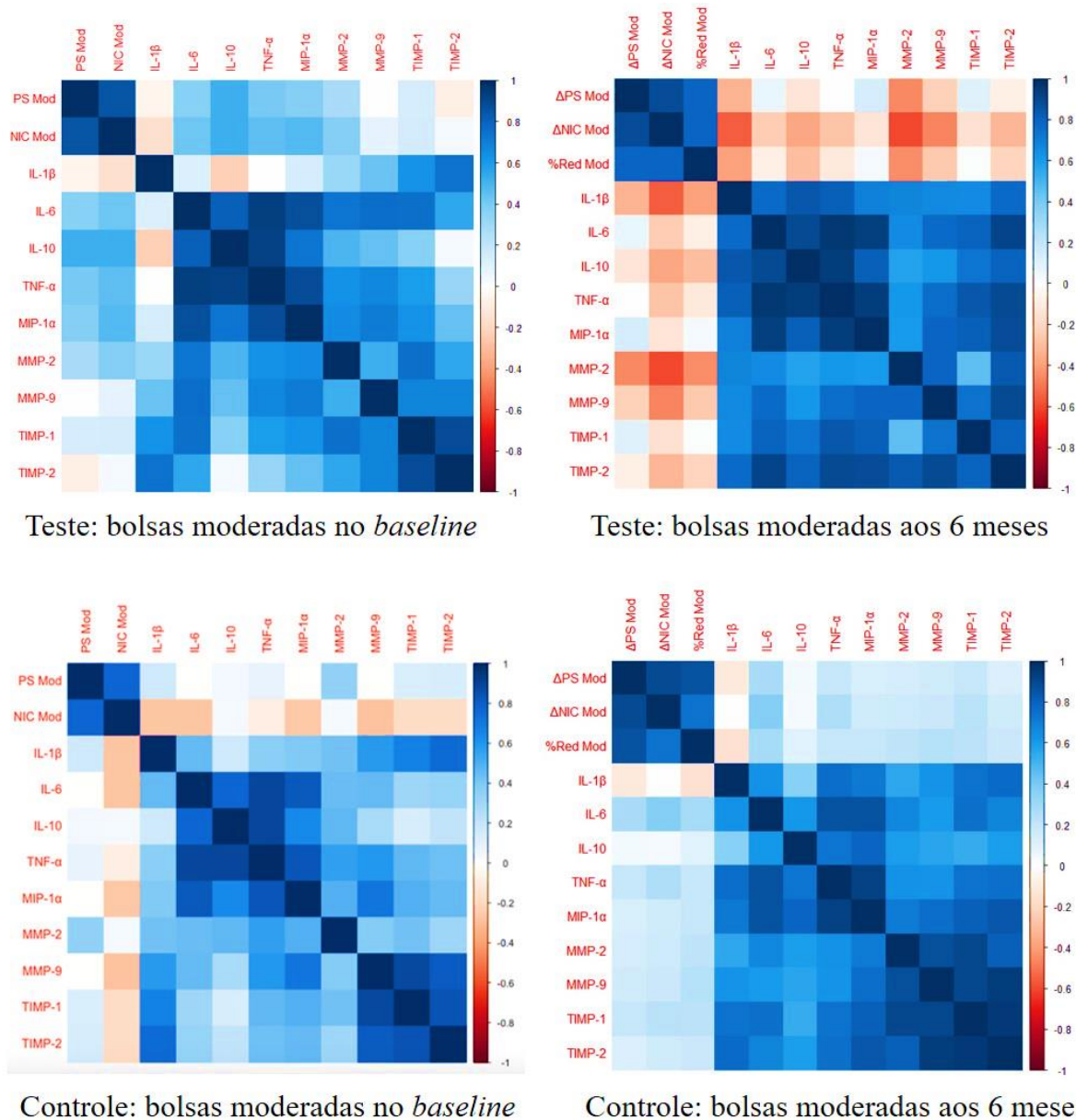
2.3.3 Análises de correlação

As citocinas foram correlacionadas com os dados clínicos de PS (mm) e NIC (mm) dos sítios moderados e profundos de onde as coletas foram realizadas no *baseline* e aos 6 meses e com Δ PS (mm), Δ NIC (mm) e a porcentagem de bolsas que fecharam ($PS \leq 4$ mm) (%RedMod; %RedProf). A seguir, somente as análises de correlação que apresentaram $-0,4 < r < 0,4$ com $p \leq 0,05$ serão descritas.

Na análise de bolsas moderadas do grupo teste no *baseline*, foi possível observar uma correlação positiva significativa ($r = +0,52$; $p = 0,04$) entre NIC e IL-10, indicando que quanto maior a perda de inserção clínica inicial, maior a presença de IL-10. Aos 6 meses, no grupo teste, foram encontradas correlações negativas significantes entre Δ NIC e MMP-2 ($r = -0,61$; $p = 0,016$) e entre Δ NIC e IL-1 β ($r = -0,56$; $p = 0,032$), corroborando com o resultado obtido na análise imunológica da IL-1 β (pg/ml) desse mesmo grupo, a qual mostrou diminuição significativa entre 0 e 6 meses ($p < 0,05$). Não foram encontradas correlações significantes entre dados clínicos e imunológicos, tanto no *baseline* quanto aos 6 meses, nas bolsas moderadas que não receberam tratamento sistêmico adjuvante (Figura 5).

Ao serem analisadas as bolsas profundas do grupo teste aos 6 meses, foi encontrada uma correlação positiva significativa entre Δ NIC e MMP-2 ($r = +0,55$; $p = 0,035$), diferentemente do observado nas bolsas moderadas do mesmo grupo, nas quais a correlação encontrada entre esses mesmos parâmetros foi negativa. No grupo controle também houve correlação positiva entre Δ NIC e MMP-2 ($r = +0,42$), porém sem significância estatística ($p = 0,123$) (Figura 6).

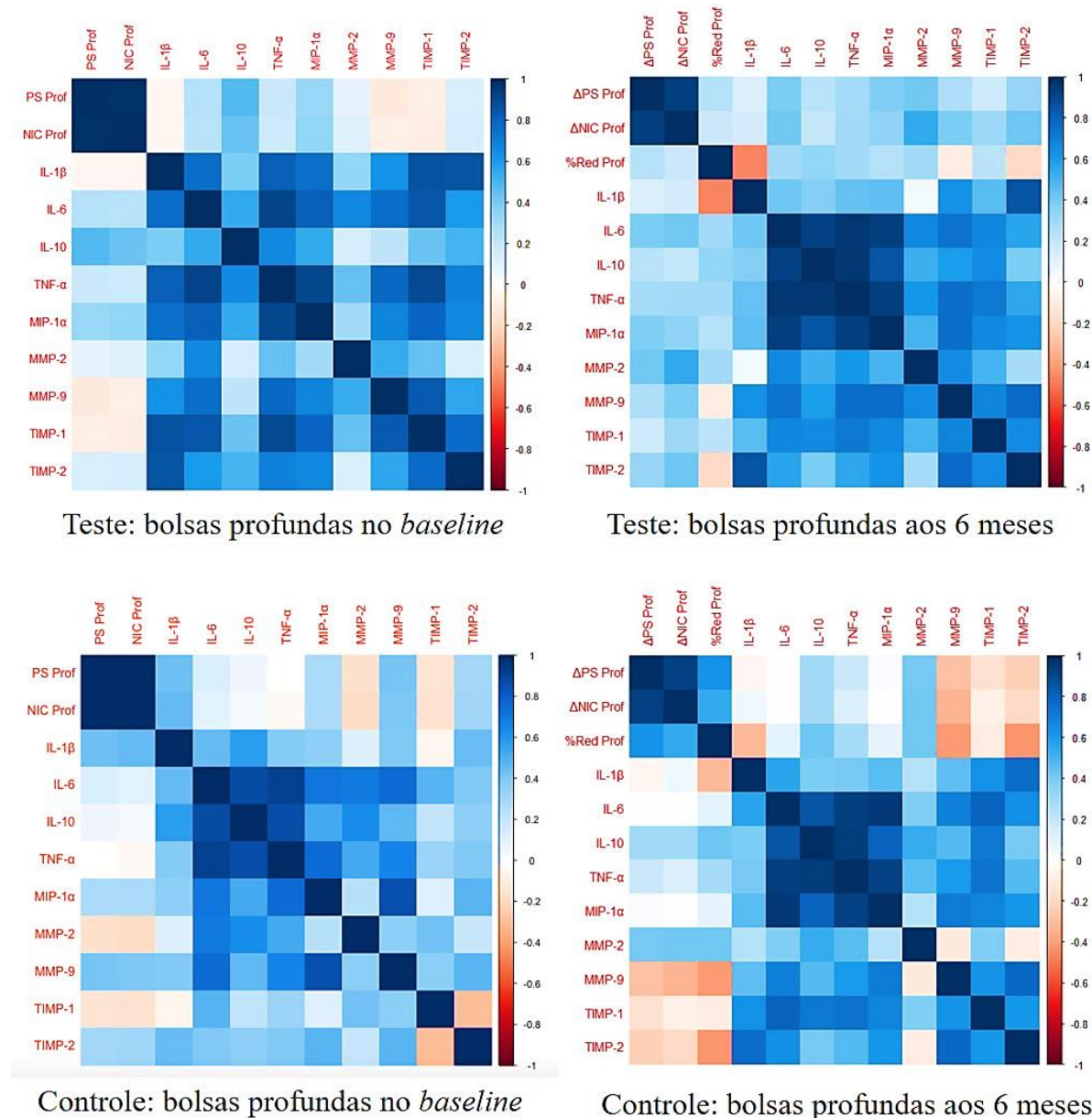
Figura 5 - Gráficos de correlação entre bolsas moderadas e marcadores inflamatórios no *baseline* e aos 6 meses após o tratamento (n=30)



Legenda: Quadrados azuis indicam associações positivas e quadrados vermelhos indicam associações negativas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 - Gráficos de correlação entre bolsas profundas e marcadores inflamatórios no *baseline* e aos 6 meses após o tratamento (n=30)



Legenda: Quadrados azuis indicam associações positivas e quadrados vermelhos indicam associações negativas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

2.4 DISCUSSÃO

O presente estudo clínico controlado randomizado avaliou as respostas clínica periodontal e imunológica frente a suplementação sistêmica de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 (900 mg) e ácido acetilsalicílico em baixa dosagem (100 mg) por 180 dias como adjuvantes ao debridamento periodontal ultrassônico no tratamento de periodontite agressiva generalizada. O emprego da supracitada terapia de modulação falhou em promover diferenças clínicas significantes em comparação ao debridamento subgengival isoladamente.

Até o momento, não há relatos de estudos que fizeram uso de AGP Ω -3 e AAS no tratamento de pacientes portadores de periodontite agressiva. Na presente investigação, as duas terapias utilizadas promoveram melhora estatisticamente significante em todos os parâmetros clínicos de boca toda, com diminuição de SS, P, PS e ganho no NIC, diferentemente do encontrado em estudos envolvendo modulação em periodontite crônica. No estudo de El-Sharkawy et al. (2010), pacientes com periodontite crônica tratados com raspagem subgengival e suplementação diária de 900 mg de Ω -3 e 81 mg de AAS por 6 meses tiveram diminuição na PS e ganho no NIC significativamente maiores que o grupo controle, assim como diminuição de MMP-8. Deore et al. (2014) e Elwakeel, Hazaa (2015) obtiveram resultados semelhantes. Castro dos Santos et al. (2020) reportaram que a utilização de 900 mg de AGP Ω -3 e 100 mg de AAS por 60 dias foi benéfica no tratamento periodontal de portadores de diabetes tipo 2. Em comparação ao grupo placebo, os pacientes randomizados para receber o tratamento teste apresentaram maior ganho de inserção em bolsas moderadas e profundas, maior redução do sangramento à sondagem e diminuição significativamente maior no nível de hemoglobina glicada passados 6 meses do tratamento, além de diminuição de IL-6.

Sabe-se que *Porphyromonas gingivalis* libera LPS a partir de vesículas presentes em sua membrana externa (Darveau et al., 2004), estimulando a secreção de mediadores pró-inflamatórios pelos monócitos, como TNF- α , IL-1 β , COX e MMPs, sendo as MMPs o mediador de reabsorção óssea mais potente na periodontite (Graves et al., 2008; El-Sharkawy et al., 2010). No presente estudo, os níveis de IL-1 β de bolsas moderadas (PS = 5-6 mm) foram reduzidos significativamente nos dois grupos experimentais, indicando que somente a desorganização do biofilme subgengival é capaz de diminuir a concentração dessa citocina relacionada ao aumento da expressão de moléculas de adesão endotelial, quimiotaxia de células do sistema imune e a degradação de colágeno (Taylor, 2010). A concentração de TIMP-2 em bolsas moderadas foi constante ao longo dos 6 meses de acompanhamento no grupo teste, enquanto que no grupo controle essa citocina se mostrou menos presente aos 3 e aos 6 meses após o tratamento mecânico, sinalizando que a presença de AGP Ω -3 e AAS pode exercer um papel importante na manutenção do colágeno. Em bolsas profundas (PS $\geq$ 7 mm), o nível de TIMP-2 sofreu uma redução aos 6 meses em comparação ao *baseline* no grupo teste, porém, a concentração desse biomarcador não diferiu na comparação intergrupo. No entanto, as concentrações de MMP-2 e MMP-9 não sofreram alteração após as intervenções.

Foram observadas correlações negativas significantes entre Δ NIC e MMP-2 ($r=-0,61$; $p=0,016$) e entre Δ NIC e IL-1 β ($r=-0,56$; $p=0,032$), corroborando com o resultado obtido na análise imunológica da IL-1 β desse mesmo grupo, a qual mostrou diminuição significativa entre 0 e 6 meses. Apesar dessa redução significativa na concentração de IL-1 β também ter ocorrido no grupo controle, não foram encontradas correlações significantes entre dados clínicos e imunológicos, tanto no *baseline* quanto aos 6 meses, nas bolsas moderadas que não receberam tratamento sistêmico adjuvante.

Ao serem analisadas as bolsas profundas do grupo teste aos 6 meses, foi encontrada uma correlação positiva significativa entre Δ NIC e MMP-2 ($r=+0,55$; $p=0,035$), diferentemente do observado nas bolsas moderadas do mesmo grupo, nas quais a correlação encontrada entre esses mesmos parâmetros foi negativa. No grupo controle também houve correlação positiva entre Δ NIC e MMP-2 ($r=+0,42$), porém sem significância estatística ($p=0,123$), sugerindo que mesmo tendo havido redução estatisticamente significativa na PS e no NIC, não houve modulação dessas citocinas de forma favorável nos dois grupos. Os dados anteriormente citados indicam que mesmo havendo ganho de inserção, ainda há um processo ativo de doença nos sítios profundos desses pacientes, apontando para um alto risco de perda adicional de inserção (Renvert, Persson 2002; Matulienė et al., 2008) e necessidade de tratamentos complementares (Del Peloso Ribeiro et al., 2008; Ribeiro Edel et al., 2009).

Os dados da presente investigação apontam que os participantes apresentaram ao redor de 30 bolsas residuais, Δ PS = 0,5 mm e Δ NIC = 0,4 mm, resultados notadamente inferiores ao atingido por estudos que utilizaram antibioticoterapia adjuvante ao tratamento de periodontite agressiva generalizada *versus* placebo. Uma revisão sistemática (Zandbergen et al., 2013) revelou que o emprego de amoxicilina e metronidazol promove, em média, Δ PS = 1,41 mm e Δ NIC = 0,94 mm, além de Δ PS = 3,72 mm e Δ NIC = 2,66 mm em bolsas profundas. Em comparação, os dados referentes a bolsas profundas do presente estudo foram Δ PS = 2,24 mm e Δ NIC = 1,92 mm.

A discordância entre os resultados da suplementação de AGP Ω -3 e AAS no tratamento não-cirúrgico de periodontite crônica e os resultados da presente investigação pode estar relacionada à algumas características peculiares do sistema imunológico de pacientes acometidos por periodontite agressiva. A literatura sugere que muitos pacientes com PAg apresentam neutrófilos cujas atividades quimiotáticas e fagocíticas se mostram prejudicadas frente à um

desafio bacteriano intenso (Ryder, 2010), como resultado de uma alteração genética herdada pelo hospedeiro. Alternativamente, foi sugerido que a resposta diminuída dos neutrófilos é uma característica adquirida em decorrência da exposição frequente aos mediadores inflamatórios e produtos microbianos, a qual também irá suscitar a liberação de enzimas que aceleram a destruição periodontal (Armitage et al., 2010; Ford et al., 2010). Podzimek et al. (2015) reportaram que pacientes com PAg apresentam maiores níveis de PCR (proteína C-reativa) em comparação a PC ou gengivite, e que há uma correlação entre níveis aumentados de PCR e a severidade da periodontite. Portanto, infere-se que a resposta inflamatória desses pacientes pode ser difícil de ser modulada, uma vez que é intensamente influenciada tanto por fatores genéticos (Vieira, Albandar, 2014; Taiete et al., 2019) quanto adquiridos.

Outro fato que pode ter influenciado os resultados é quantidade de AGP Ω -6 ingerido pelos pacientes. Estudos demonstram que a proporção correta entre o consumo de AGP Ω -6 e AGP Ω -3 é importante para o controle e tratamento de doenças crônicas, uma vez que ambos exercem ações opostas, sendo AGP Ω -6 pertencente à família do ácido araquidônico (Simopoulos 2002, 2008). Na atualidade, a composição da dieta tem sido caracterizada por uma maior ingestão de AGP Ω -6 em comparação a ingesta de AGP Ω -3 (Kris-Etherton et al., 2000). Tendo-se em mente que os participantes do presente estudo possuem ao redor de 30 anos e que os pacientes portadores de periodontite crônica normalmente possuem uma média de idade consideravelmente maior, especula-se que a composição da alimentação dos pacientes mais jovens seja de pior qualidade, rico em produtos com alta taxa de AGP Ω -6, como carne, óleos vegetais, produtos industrializados fabricados com gordura vegetal, em detrimento da diminuição do consumo de alimentos ricos em AGP Ω -3, como salmão, sardinha e atum (Calder, 2008).

Algumas limitações do presente estudo devem ser destacadas. A primeira delas é a difícil comparação com dados de investigações prévias, uma vez que os protocolos de AGP Ω -3 e AAS empregados são diversos e que não foram incluídos pacientes portadores de periodontite agressiva. Outro ponto a se considerar é a ausência de avaliação microbiológica, a qual poderia auxiliar e complementar a compreensão dos resultados obtidos. Novos estudos com outros delineamentos e maior tamanho da amostra se fazem necessários para confirmar ou refutar os resultados aqui apresentados.

2.5 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do estudo, conclui-se que a suplementação sistêmica de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 (900 mg) e ácido acetilsalicílico em baixa dosagem (100 mg) por 180 dias como adjuvantes ao debridamento periodontal ultrassônico de boca toda em sessão única não promoveu benefícios clínicos e imunológicos no tratamento de periodontite agressiva generalizada.

3 EFEITO DA TERAPIA DE MODULAÇÃO DO HOSPEDEIRO POR MEIO DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE ÔMEGA-3 E ASPIRINA NA FASE CIRÚRGICA DO TRATAMENTO DE PERIODONTITE AGRESSIVA GENERALIZADA: estudo clínico controlado randomizado

3.1 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito clínico e imunológico da suplementação diária de 900 mg de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e de 100 mg de ácido acetilsalicílico por um período de 180 dias como adjuvantes à terapia cirúrgica de bolsas residuais de pacientes portadores de periodontite agressiva generalizada.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 População-alvo

A população foi constituída de pacientes com diagnóstico de periodontite agressiva generalizada (PAgG), atualmente Periodontite grau C (Papapanou et al., 2018), recrutados no Instituto de Ciência e Tecnologia – Unesp, em São José dos Campos/SP, que foram submetidos previamente à terapia periodontal básica e possuem bolsas residuais com profundidade de sondagem $\geq 5\text{mm}$ e

sangramento. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da mesma instituição (ANEXO B).

3.2.2 Tamanho da amostra

O cálculo do tamanho da amostra do estudo foi realizado pelo Sealed EnvelopeTM. Considerando $\alpha=5\%$ e $\beta=5\%$ (*power* de 95%) para detectar uma diferença intergrupo de ao menos 1 mm no nível de inserção clínica, com um desvio padrão de 0,8 mm, 34 pacientes seriam necessários, sendo 17 pacientes em cada grupo.

3.2.3 Critérios de inclusão

Indivíduos maiores de 18 anos de idade; diagnóstico prévio de periodontite agressiva generalizada (Armitage, 1999; American Academy of Periodontology, 2015), atualmente denominada Periodontite grau C (Papapanou et al., 2018); ter sido submetido a uma primeira abordagem de tratamento periodontal (debridamento ultrassônico de boca toda); apresentar ao menos uma bolsa periodontal residual com profundidade de sondagem ≥ 5 mm e sangramento não localizada em região de furca; apresentar boa saúde sistêmica; concordar em participar do estudo e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios (Conselho Nacional de Saúde - Resolução 466/2012 e Código de Ética Odontológica CFO-42/2003).

3.2.4 Critérios de não-inclusão

Pacientes com problemas sistêmicos (alterações cardiovasculares, discrasias sanguíneas, imunodeficiência - ASA III/IV/V - Mupparu, Singer, 2018) que contraindiquem o procedimento periodontal; histórico de gastrite ou úlceras no trato gastrointestinal; ter passado por tratamento periodontal nos últimos 12 meses; ter feito uso de antibióticos e anti-inflamatórios nos últimos seis meses; fumar mais do que 10 cigarros por dia; estar em período de gestação ou lactante; fazer uso crônico de medicações que podem alterar a resposta dos tecidos periodontais; ter indicação de profilaxia antibiótica para procedimentos odontológicos; histórico de alergia ao ácido acetilsalicílico e à frutos do mar; uso contínuo de ômega-3 previamente ao estudo.

3.2.5 Critérios de saída

Pacientes que, por qualquer motivo, fizessem uso de drogas antibióticas e/ou anti-inflamatórias durante o período do estudo ou que voluntariamente decidissem abandonar a pesquisa.

3.2.6 Delineamento do estudo

Estudo do tipo clínico, controlado, randomizado, prospectivo, duplo-cego, de superioridade com acompanhamento de 6 meses.

3.2.7 Terapia inicial

Todos os pacientes foram submetidos a uma abordagem não-cirúrgica para o tratamento de periodontite agressiva, constituída por instrução de higiene oral (IHO), profilaxia, adequação do meio bucal, raspagem supragengival e debridamento ultrassônico subgengival de boca toda em sessão única, bem como receberam informações sobre o seu estado periodontal. Após o debridamento periodontal, os pacientes foram submetidos a sessões de controle de placa e IHO à fim de se alcançar e manter um índice de placa <20%.

3.2.8 Seleção dos sítios com bolsa residual

Após a reavaliação periodontal, uma bolsa residual com sangramento e profundidade de sondagem ≥ 5 mm não localizada em região de furca foi selecionada, através de sorteio, para receber um dos seguintes tratamentos:

- a) grupo teste (n=17): acesso cirúrgico para raspagem e alisamento radicular + suplementação diária de 900 mg de AGP Ω -3 e 100 mg de AAS por 180 dias;
- b) grupo controle (n=17): acesso cirúrgico para raspagem e alisamento radicular + placebo.

A dose de 900 mg de AGP Ω -3 se constituiu de 540 mg de ácido eicosapentaenoico (EPA) e 360 mg de ácido docosahexaenoico (DHA), provenientes de 3 g de óleo de peixe (Ômega-3 1000 mg, Catarinense Pharma,

Brasil).

3.2.9 Sequência de randomização, ocultamento e cegamento

A randomização foi feita da seguinte forma: uma pessoa externa ao estudo gerou uma sequência aleatória em computador para definir a ordem de realização dos tratamentos (teste/controle) de acordo com o número de pacientes que comporiam a amostra. Essa sequência foi seguida à medida que as cirurgias foram executadas. Os pesquisadores responsáveis pelo recrutamento (MS), tratamento (CA) e aferição dos parâmetros clínicos (NA) eram distintos, caracterizando o cegamento do estudo.

3.2.10 Tratamento

Uma hora antes da terapia cirúrgica, os pacientes recebiam uma dose única de dexametasona 4 mg. O tratamento cirúrgico foi realizado por um único operador (CA), obedecendo a seguinte sequência (Figura 7):

- 1) foi fornecido 10 mL de solução a base de digluconato de clorexidina 0,12% (Periogard®, Colgate Palmolive Ltda – Osasco/SP) para ser bochechado pelo paciente por 1 minuto para desinfecção intraoral;
- 2) antisepsia da região perioral era realizada com gaze estéril embebida em solução de digluconato de clorexidina 0,2%;
- 3) o paciente recebia anestesia local injetável com mepivacaína 2% com

epinefrina 1:100.000 (Mepivacaína®, DFL – Rio de Janeiro/RJ) através de técnica infiltrativa ou bloqueio;

- 4) o acesso cirúrgico foi realizado pela técnica de cirurgia à retalho modificado de Kirkland (Kirkland, 1931). Com uma lâmina 15c, incisões intrassulculares eram feitas até o fundo da bolsa/sulco nas faces vestibular, lingual e nas áreas interproximais. As incisões se estendiam nas direções mesial e distal do dente afetado. O tecido gengival era descolado do tecido ósseo para possibilitar a exposição da superfície radicular, a qual era cuidadosamente raspada e aplainada com curetas periodontais após a remoção de todo tecido de granulação e utilização de aparelho ultrassom (Cavitron – Dentsply EUA). Após copiosa irrigação com solução salina, o retalho era reposicionado e mantido por suturas interproximais com fio de seda Ethicon® 4-0 (Ethicon Johnsons do Brasil SA, São José dos Campos/SP).

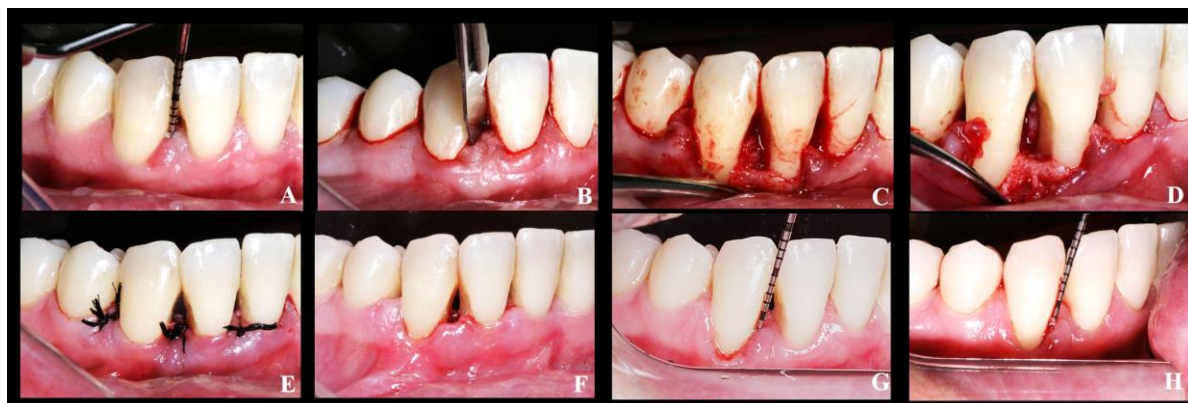
As embalagens dos produtos eram entregues após o término do procedimento de acordo com a terapia indicada na randomização.

3.2.11 Pós-operatório

Os pacientes recebiam as seguintes recomendações pós-operatórias: não ingerir bebidas alcóolicas; não mexer na ferida cirúrgica; não escovar e não utilizar o fio dental na região por 7 dias; ingerir somente alimentos líquidos ou pastosos frios ou gelados (sorvete, iogurte, sucos e gelatina) nas primeiras 24 h; fazer bochecho com digluconato de clorexidina 0,12% (Periogard®) de 12 em 12 horas por 14 dias. Foi prescrito dipirona sódica 500 mg a cada 6 h em caso de

dor, ou caso o paciente reportasse alergia a dipirona, paracetamol 500 mg na mesma posologia. As suturas eram removidas 7 dias após a cirurgia

Figura 7 - Sequência do procedimento cirúrgico do sítio 43 mesial



Legenda: A) sondagem inicial (5mm); B) incisões intrassulculares se estendendo para mesial e distal; C) retalho rebatido; D) superfícies radiculares descontaminadas; E) retalho reposicionado e suturado; F) pós-operatório de 7 dias com remoção da sutura; G) sondagem de 3 meses (3mm); H) sondagem de 6 meses (3mm).

Fonte: elaborado pelo autor.

3.2.12 Medidas clínicas

Todas as medidas clínicas foram realizadas por um único pesquisador (NA) previamente calibrado e cego em relação ao tratamento recebido pelos pacientes. A calibração do examinador foi feita da seguinte forma: o examinador mediu a PS e o NIC de 10 pacientes duas vezes em um intervalo de 24 h. Em seguida, as medidas foram submetidas ao teste de correlação intraclasse e o examinador foi julgado calibrado por ter atingido concordância de 95% nas medidas.

As avaliações foram realizadas previamente ao tratamento (*baseline*), 3 e

6 após a terapia. Os seguintes parâmetros foram avaliados: 1. placa (P), presença (1) ou ausência (0) de biofilme no sítio de interesse; 2. sangramento à sondagem (SS), presença (1) ou ausência (0) de sangramento após a sondagem do sítio de interesse; 3. profundidade de sondagem (PS), medida do fundo da bolsa até a margem gengival; 4. recessão gengival (RG), medida da margem gengival até a junção cimento-esmalte; 5. nível de inserção clínica (NIC), medida do fundo da bolsa até a junção cimento-esmalte. Todas as medidas foram realizadas com sonda periodontal Carolina do Norte (UNC - Hu-Friedy).

3.2.13 Análise imunológica

Para análise das possíveis mudanças imunológicas produzidas pelos tratamentos, foram coletadas amostras de fluido crevicular gengival (GCF) dos sítios cirúrgicos de 30 pacientes (15 de cada grupo). As coletas foram realizadas no baseline, 3 e 6 meses após o tratamento. Para tal, os sítios de interesse eram isolados com roletes de algodão estéril, seguido de cuidadosa remoção do biofilme supragengival com o auxílio de uma cureta periodontal. Após, um cone de papel estéril era inserido na bolsa e mantido por 30 s (Hartoch et al., 1999). As amostras eram armazenadas em microtubos estéreis contendo 300µl de solução salina de fosfato (PBS) e armazenadas em freezer -20°C até o ensaio multiplex. O nível das seguintes citocinas foi mensurado no GCF: interleucinas (IL)-10, -1 β , -6, proteína inflamatória de macrófago (MIP)-1 α , fator de necrose tumoral (TNF)- α , inibidores teciduais de metaloproteinase (TIMP)-1, -2, assim como metaloproteinases da matriz (MMP)-2 e -9. Foi utilizado o 10-plex kit de alta sensibilidade (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) de acordo com a instrução do fabricante. As amostras foram analisadas pela plataforma MAGpix

(MiraiBio, Alameda, CA, EUA e as concentrações de cada citocina (pg/ml) foram calculadas utilizando uma curva padrão de 5 parâmetros, no programa Xponet (Millipore Corporation).

3.2.14 Avaliação radiográfica

Radiografias periapicais foram realizadas pela técnica do paralelismo no *baseline* e aos 6 meses após o procedimento cirúrgico para mensuração de possível ganho ósseo vertical. As medidas foram realizadas com uma sonda milimetrada Carolina do Norte comparando-se a proporção entre o tamanho do guia metálico (de tamanho padronizado em 5 mm de comprimento) e a medida entre a porção mais apical da crista óssea e a junção cimento-esmalte estimada do elemento dentário na região de interesse (Figura 8).

3.2.15 Avaliações centradas no paciente

Os seguintes parâmetros centrados nos pacientes foram coletados e avaliados:

- a) desconforto pós-operatório: ao final da primeira semana após a terapia cirúrgica (7 dias), os pacientes eram indagados acerca de ocorrência de desconforto e dor pós-operatória e solicitados a marcar em uma escala análoga visual (VAS) sua percepção do sintoma (0-10);
- b) quantidade de analgésicos ingeridos: os pacientes eram indagados à

respeito do número de analgésicos ingeridos durante os 7 dias de pós-operatório da terapia periodontal;

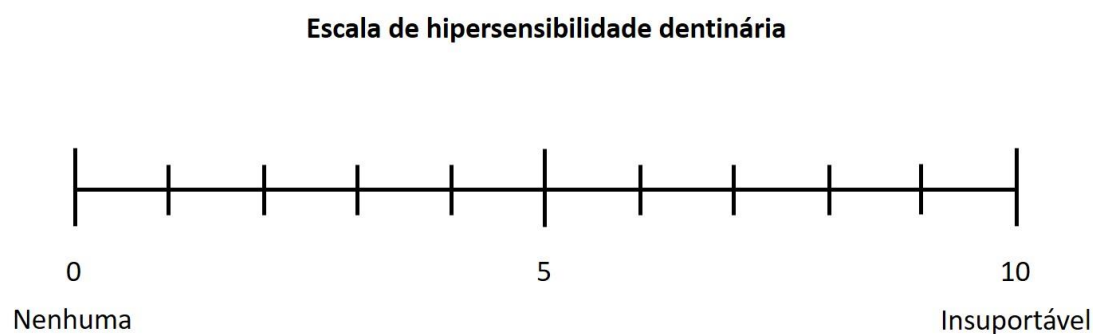
- c) hipersensibilidade dentinária (Figura 9): os indivíduos foram submetidos a uma rajada de ar frio (19°C), durante 5 segundos, sobre a região radicular do sítio de interesse e solicitados a marcar em uma escala (VAS) a intensidade do sintoma (0-10). Essa avaliação foi realizada no *baseline*, 3 e 6 meses após a terapia periodontal;
- d) avaliação estética (Figura 10): era solicitado que os pacientes marcassem em uma escala (VAS) a sua percepção a respeito da estética (0-10) do sítio incluído no estudo no *baseline* e 6 meses após a cirurgia.

Figura 8 - Análise das radiografias periapicais



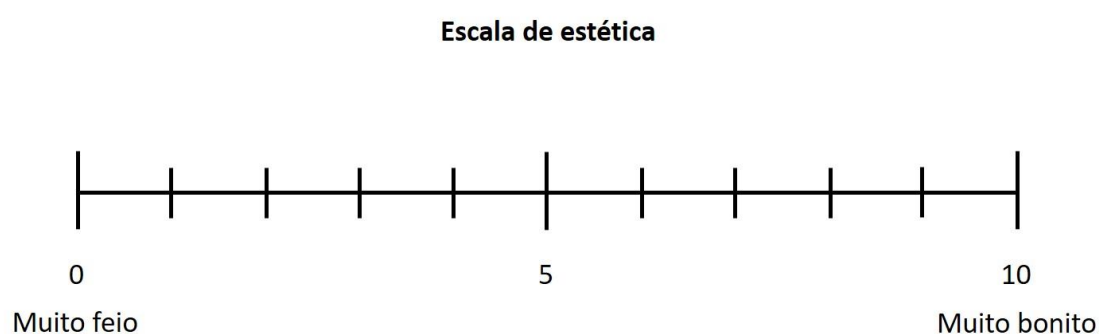
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9 - Escala visual de hipersensibilidade dentinária



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10 - Escala visual de percepção estética



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.16 Análise estatística

Média e desvio-padrão foram calculados para cada parâmetro. A distribuição normal foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados demográficos foram analisados pelo Teste-t para variáveis independentes. O teste qui-quadrado foi empregado na análise do gênero dos pacientes. As

diferenças entre P, SS, PS e NIC dos sítios de interesse, assim como os parâmetros centrados nos pacientes e as concentrações das citocinas, foram analisadas utilizando um Modelo de Equações Estimadas Generalizadas e as reduções foram avaliadas por Modelos Lineares Generalizados, ajustados para *baseline* quando indicado. O teste *post-hoc* aplicado para cada comparação por pares foi Bonferroni. As análises de correlação entre os dados clínicos e as citocinas foram realizadas pelo coeficiente de Pearson (dados com distribuição normal) ou pelo coeficiente de Spearman. A análise estatística foi realizada adotando-se nível de significância de 5%, utilizando os programas IBM SPSS e RStudio.

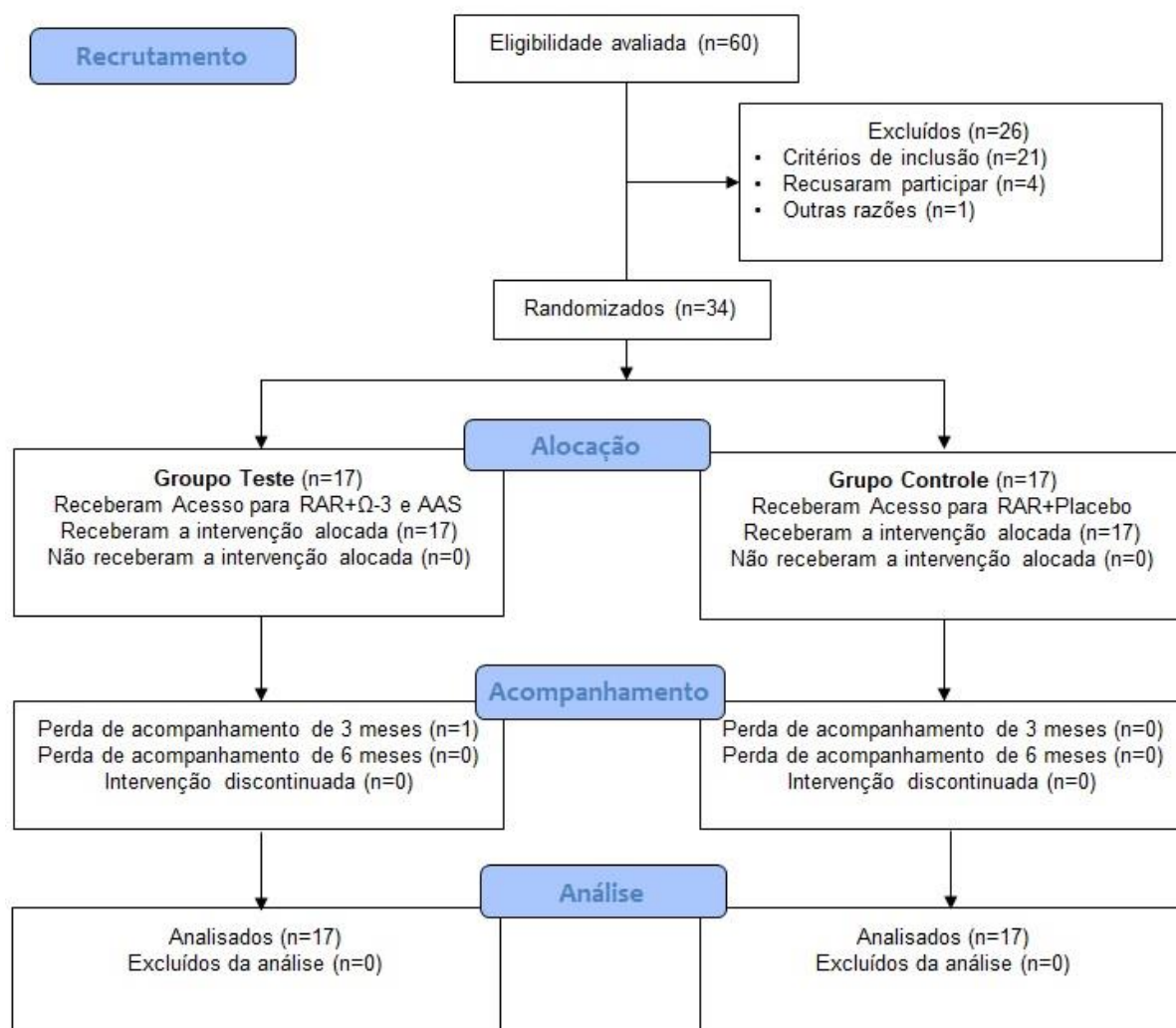
3.3 RESULTADOS

3.3.1 Dados clínicos e demográficos

Foram realizados 34 procedimentos cirúrgicos no período entre set/2017 e maio/2019. O fluxograma do presente estudo pode ser visto na Figura 11.

Os dados iniciais dos participantes e dos sítios incluídos no estudo estão representados na Tabela 6. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em relação aos parâmetros clínicos iniciais de PS, NIC, SS e IP, bem como à idade e distribuição de homens e mulheres.

Figura 11 - Fluxograma do estudo



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 6 - Parâmetros demográficos e dos sítios no baseline (n=34)

Parâmetro	Teste (n=17)	Controle (n=17)	p value
Idade (anos)	34,17 ± 4,9	33,06 ± 5,13	0,86†
Gênero (m/f)	4/13	4/13	1§
PS (mm)	5,17 ± 0,2	5,14 ± 0,14	1*
RG (mm)	0,33 ± 0,19	0,15 ± 0,11	1*
NIC (mm)	5,5 ± 0,25	5,29 ± 0,16	1*
SS (%)	100	100	1§
P (%)	0	0	1§

Legenda: m, masculino; f, feminino; PS, profundidade de sondagem; NIC, nível de inserção clínica; SS, sangramento à sondagem; P, Placa: 0 - ausência e 1 - presença. $p < 0,05$. †Teste-t para variáveis independentes; § χ^2 . *Ajustado pela correção de Bonferroni.

A análise dos sítios incluídos no estudo revelou que ambos os tratamentos promoveram diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na PS (mm) aos 3 e 6 meses pós-operatório, bem como redução significativa da mesma após o término dos acompanhamentos, sem diferenças intergrupo ($p > 0,05$). Porém, somente houve ganho significativo no NIC (mm) passados 6 meses quando a suplementação sistêmica com AGP Ω -3 e AAS foi utilizada ($p = 0,02$). Ademais, o grupo teste também apresentou menor aumento da RG (mm) ao final do estudo ($p = 0,03$), quando comparado ao grupo controle. Os pacientes do grupo teste tiveram redução significativa do SS (%) já aos 3 meses, com diferença intergrupo ($p = 0,03$), fato que somente ocorreu no grupo controle passados 6 meses. Nos dois grupos experimentais ocorreu um aumento significativo no acúmulo de P (%) após 3 e 6 meses ($p < 0,05$), porém, sem diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Média $\pm$ dp dos parâmetros clínicos dos sítios (n=34)

Parâmetro	Período	Teste (n=17)	Controle (n=17)	p value
PS (mm)	Baseline	5,17 $\pm$ 0,2 Aa	5,14 $\pm$ 0,14 Aa	1*
	3 meses	4,08 $\pm$ 0,21 Ab	3,76 $\pm$ 0,2 Ab	1*
	6 meses	4 $\pm$ 0,15 Ab	3,94 $\pm$ 0,2 Ab	1*
	PS (Δ)	1,17 $\pm$ 0,17 A	1,2 $\pm$ 0,17 A	0,85†
RG (mm)	Baseline	0,33 $\pm$ 0,19 Aa	0,15 $\pm$ 0,11 Aa	1*
	3 meses	0,56 $\pm$ 0,2 Ab	0,97 $\pm$ 0,24 Ab	1*
	6 meses	0,64 $\pm$ 0,2 Ab	1,03 $\pm$ 1,26 Ab	1*
	RG (Δ)	0,31 $\pm$ 0,39 A	0,88 $\pm$ 0,92 B	0,03†
NIC (mm)	Baseline	5,5 $\pm$ 0,25 Aa	5,29 $\pm$ 0,16 Aa	1*
	3 meses	4,64 $\pm$ 0,29 Ab	4,73 $\pm$ 0,28 Aa	1*
	6 meses	4,64 $\pm$ 0,22 Ab	4,97 $\pm$ 0,25 Aa	1*
	Ganho NIC (Δ)	0,82 $\pm$ 0,19 A	0,35 $\pm$ 0,19 B	0,02†
SS (%1)	Baseline	100 Aa	100 Aa	1§
	3 meses	76,47 Ab	100 Ba	0,03§
	6 meses	64,7 Ab	64,7 Ab	1§
P (%1)	Baseline	0 Aa	0 Aa	1§
	3 meses	35,29 Ab	47,05 Ab	0,48§
	6 meses	35,29 Ab	35,29 Ab	1§

Legenda: PS, profundidade de sondagem; NIC, nível de inserção clínica; RG, recessão gengival; SS, sangramento à sondagem: 0 (ausência) ou 1 (presença); P, placa: 0 (ausência) ou 1 (presença). Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG); Δ : Modelos Lineares Generalizados (MLG) com ajuste para *baseline* em Δ PS e Δ NIC. Letras diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significantes; $p < 0,05$. *Ajustado pela correção de Bonferroni. †Teste-T para variáveis independentes. § χ^2 .

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando os parâmetros centrados nos pacientes foram avaliados (Tabela 8), notou-se que os pacientes do grupo teste reportaram redução estatisticamente significativa na ocorrência de hipersensibilidade dentinária ao longo dos acompanhamentos de 3 e 6 meses ($p < 0,05$). Em contrapartida, aos 6 meses, os relatos desse desconforto diferiram significativamente intergrupo ($p = 0,01$), de forma desfavorável ao grupo controle. Quanto à percepção estética do sítio

operado, houve melhora significativa neste quesito tanto no grupo teste quanto no grupo controle ($p < 0,05$), sem diferença significativa entre os grupos ($p = 0,74$). Um dado digno de nota foi a menor quantidade de analgésicos ingeridos durante os 7 dias de pós-operatório pelos pacientes do grupo teste em comparação ao grupo controle ($p = 0,02$).

Tabela 8 - Parâmetros centrados nos pacientes (n=34)

Parâmetro	Tempo	Teste (n=17)	Controle (n=17)	p value
Hipersensibilidade dentinária	Baseline	1,76 ± 0,51 Aa	1,05 ± 0,51 Aa	1*
	3 meses	1,41 ± 0,45Aa	2,88 ± 0,86 Aa	1*
	6 meses	0,94 ± 0,4 Ab	2,05 ± 0,62 Aa	1*
	(Δ)	0,82 ± 0,51 A	- 1 ± 0,51 B	0,01†
VAS estética	Baseline	5,11 ± 0,56 Aa	6,29 ± 0,42 Aa	0,56*
	6 meses	6,64 ± 0,38 Ab	7,58 ± 0,51 Ab	0,86*
	(Δ)	1,53 ± 0,51 A	1,29 ± 0,51 A	0,74†
Número de analgésicos	7 dias	0,23 ± 0,43 A	0,7 ± 1,31 B	0,02†

Legenda: VAS, visual analog scale (escala análoga visual). Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG); Δ: Modelos Lineares Generalizados (MLG). Letras diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significantes; $p < 0,05$. *Ajustado pela correção de Bonferroni. †Teste-T para variáveis independentes. Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise das radiografias periapicais (Tabela 9) de 32 pacientes (16 por grupo) não evidenciou ganho ósseo ao longo do estudo nem diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 9 - Análise radiográfica do nível ósseo vertical (n=32)

Parâmetro	Tempo	Teste (n=16)	Controle (n=16)	p value
JCE-CO (mm)	Baseline	3,3 ± 0,36 Aa	4,73 ± 0,51 Aa	0,14*
	6 meses	3,12 ± 0,37 Aa	4,54 ± 0,48 Aa	0,12*
	JCO-CO (Δ)	0,18 ± 0,4 A	0,19 ± 0,43 A	0,67†

Legenda: JCE, junção cimento-esmalte; CO, crista óssea. Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG); Δ: Modelos Lineares Generalizados (MLG). Letras diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significantes; $p < 0,05$. *Ajustado pela correção de Bonferroni. †Teste-T para variáveis independentes.

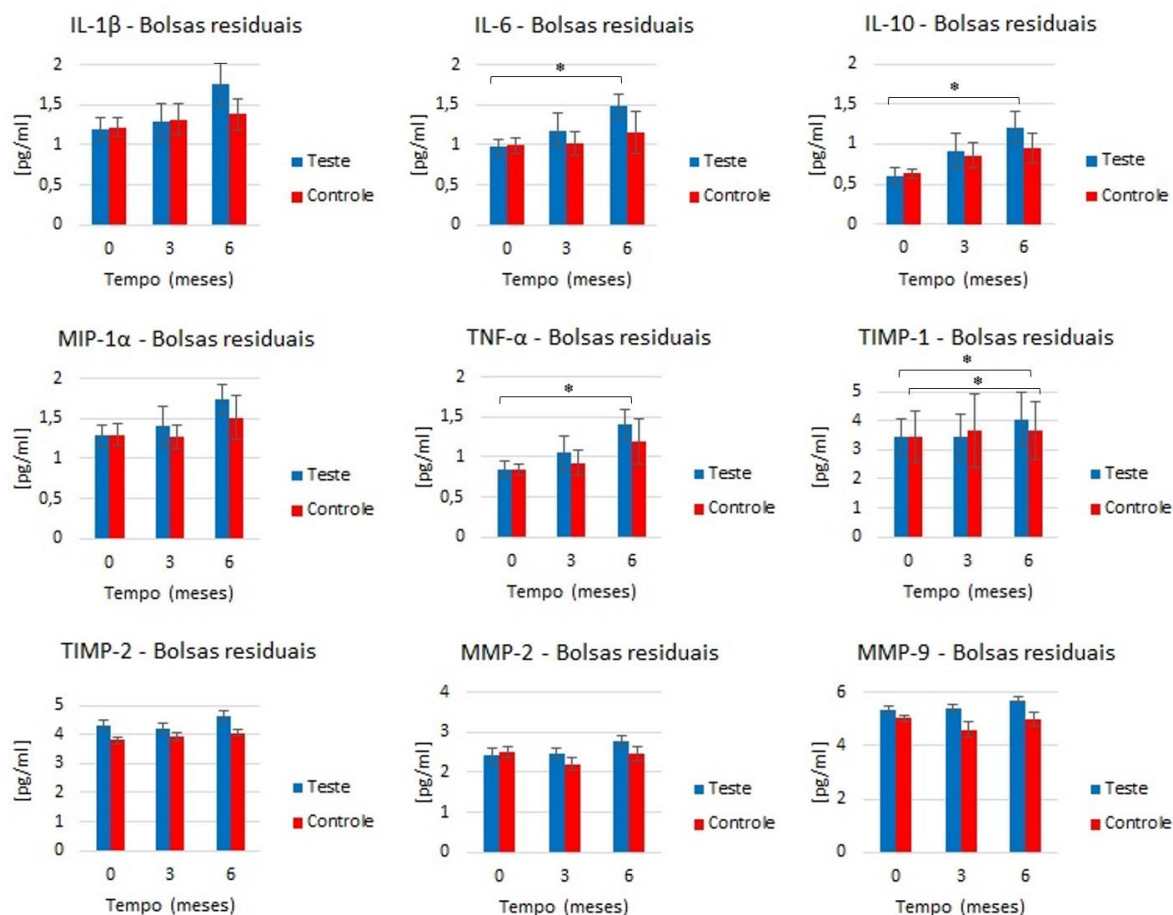
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.2 Análise imunológica

O exsudato inflamatório (GCF) coletado dos sítios submetidos ao procedimento cirúrgico de 15 pacientes de cada grupo no *baseline*, 3 e 6 meses após os tratamentos foi submetido a um ensaio multiplex (Figura 12).

Em relação ao *baseline*, foi observado aumento significativo ($p < 0,05$) nas concentrações (pg/ml) de IL-10, IL-6 e TNF- α aos 6 meses no grupo teste. Ao final do estudo, ambos os grupos experimentais apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração (pg/ml) de TIMP-1. Não foram encontradas diferenças intergrupo ($p < 0,05$) na análise das citocinas.

Figura 12 - Concentração (pg/ml) de citocinas em bolsas residuais ao longo dos acompanhamentos (n=30)



Legenda: *diferença significativa intragrupo ($p < 0,05$); **diferença significativa intergrupo ($p < 0,05$). Diferenças estatisticamente significantes entre tempos e grupos foram analisadas através de Equações de Estimativas Generalizadas (EEG), com ajuste para *baseline* quando indicado.

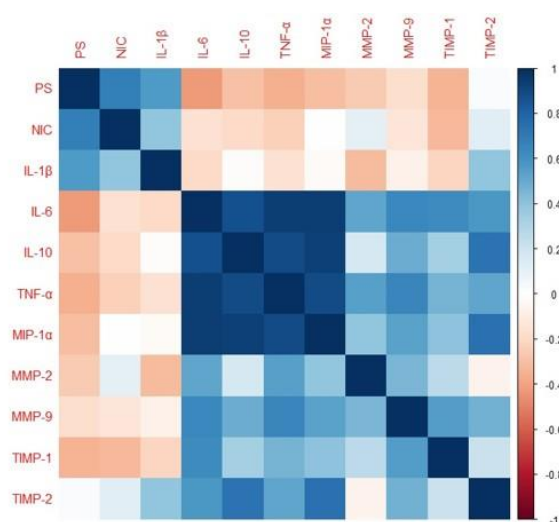
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.3 Análises de correlação

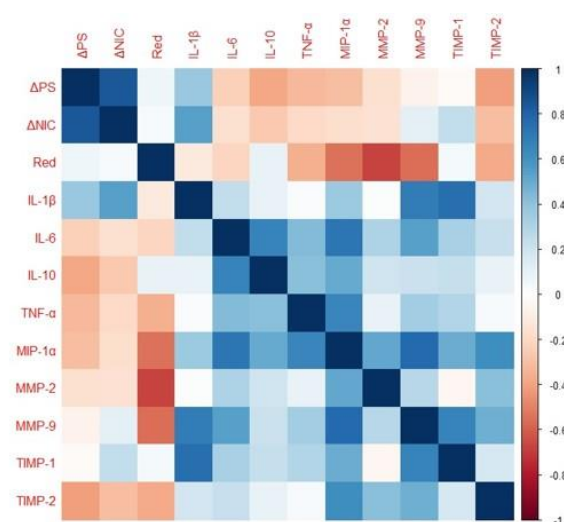
As citocinas foram correlacionadas com os dados clínicos de PS (mm) e NIC (mm) das bolsas residuais no *baseline* e aos 6 meses e com Δ PS (mm), Δ NIC (mm) e a frequência de fechamento das bolsas (Red) (Figura 13). A

seguir, somente as análises de correlação que apresentaram $-0,4 < r < 0,4$ com $p \leq 0,05$ serão descritas.

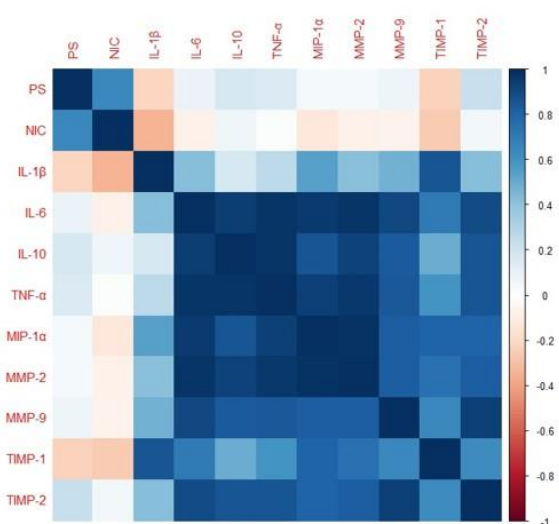
Figura 13 - Gráficos de correlação entre bolsas residuais e marcadores inflamatórios no *baseline* e aos 6 meses após o tratamento (n=30)



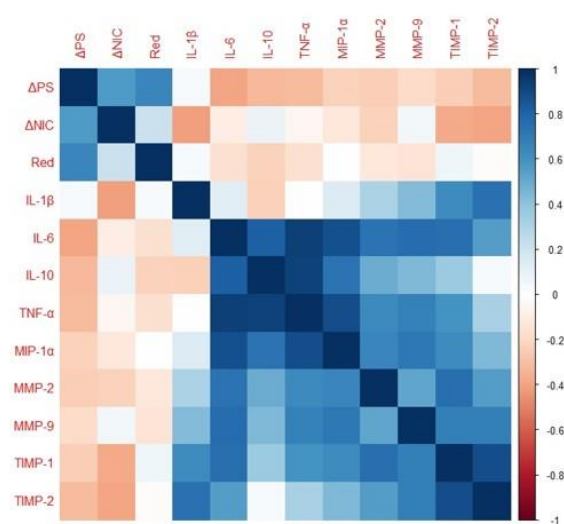
Teste: bolsas residuais no *baseline*



Teste: bolsas residuais aos 6 meses



Controle: bolsas residuais no *baseline*



Controle: bolsas residuais os 6 meses

Legenda: Quadrados azuis indicam associações positivas e quadrados vermelhos indicam associações negativas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando os dados iniciais foram analisados, não foram encontradas correlações significantes ($p < 0,05$) entre parâmetros clínicos e imunológicos, tanto no grupo teste quanto no grupo controle. Contudo, passados 6 meses dos procedimentos cirúrgicos, foram observadas no grupo teste correlações negativas significantes ($p < 0,05$) entre a frequência de fechamento das bolsas (Red) e a concentração (pg/ml) de MMP-2 ($r = -0,68$; $p = 0,008$), assim como entre Red e MMP-9 ($r = -0,56$; $p = 0,045$).

3.4 DISCUSSÃO

No presente estudo clínico controlado randomizado o emprego adjuvante da terapia de modulação do hospedeiro por meio da suplementação sistêmica de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 (900 mg) e ácido acetilsalicílico em baixa dosagem (100 mg) por 180 dias promoveu benefícios clínicos significantes na terapia cirúrgica de bolsas residuais de pacientes com periodontite agressiva generalizada.

A literatura aponta que o tratamento de pacientes que apresentam doença periodontal com rápida perda de inserção se beneficia da associação de antimicrobianos à terapia não-cirúrgica (Teughels et al., 2014). Contudo, podem persistir sítios com processo inflamatório ativo, levando o profissional a considerar a execução de um procedimento adicional cirúrgico com vistas a prevenir a ocorrência de maior perda de inserção e eventual perda do elemento dental. A cirurgia periodontal tem como objetivos facilitar o acesso a superfície radicular para que possa ser realizada uma descontaminação profissional mais efetiva, promovendo uma superfície mais biocompatível com a reparação tecidual (Graziani et al., 2018).

Embora a presença de bactérias patogênicas seja um fator determinante para o estabelecimento da periodontite, sabe-se que a maior parte do dano tecidual decorre da resposta do hospedeiro (Ebersole et al., 2013). Estudos que utilizaram AGP Ω -3 e AAS no tratamento de periodontite crônica revelaram uma modulação favorável da resposta inflamatória dos pacientes, levando a maior redução na PS, maior ganho no NIC, assim como maior redução de citocinas pró-inflamatórias (El-Sharkawy et al., 2010; Deore et al., 2014; Naqvi et al., 2014; Elwakeel, Hazaa, 2015; Castro dos Santos et al., 2020).

Até o momento, não há relatos de estudos que fizeram uso de AGP Ω -3 e AAS no tratamento cirúrgico de pacientes portadores de periodontite agressiva generalizada (PAgG). A análise das bolsas residuais incluídas no estudo revelou que ambos os tratamentos promoveram diminuição estatisticamente significativa na PS aos 3 e 6 meses pós-operatório, sem diferenças intergrupo. Porém, somente houve ganho significativo na variável primária do estudo (NIC) quando a suplementação sistêmica com AGP Ω -3 e AAS foi empregada ($p=0,02$). Ademais, os pacientes do grupo teste tiveram redução significativa do SS já no acompanhamento de 3 meses, com diferença intergrupo ($p=0,03$), fato que somente ocorreu no grupo controle após 6 meses.

Cada vez mais a literatura ratifica a importância de serem avaliados parâmetros centrados no paciente. Tais parâmetros são medidas subjetivas que capturam as perspectivas dos pacientes em relação à doença ou ao tratamento da mesma, complementando as medidas convencionais (Hujoel, 2004). Na presente investigação, os pacientes dos dois grupos reportaram um aumento do escore (0-10) em relação a percepção estética (p intergrupo= $0,74$). No quesito hipersensibilidade dentinária, notou-se que os pacientes do grupo teste reportaram redução estatisticamente significativa na ocorrência desse sintoma ao longo dos acompanhamentos de 3 e 6 meses. Em contrapartida, a análise final dos dados demonstrou uma diferença significativa intergrupo ($p=0,01$)

desfavorável ao grupo controle. Outro dado interessante encontrado foi a menor quantidade de analgésicos ingeridos durante os 7 dias de pós-operatório pelos pacientes do grupo teste em comparação ao grupo controle ($p=0,02$).

Os resultados a respeito de parâmetros centrados nos pacientes citados anteriormente podem ser explicados pela maior ocorrência de recessão gengival após a abordagem cirúrgica no grupo controle (p intergrupo= $0,03$), a qual pode promover a exposição de túbulos dentinários ao ambiente oral e ocasionar hipersensibilidade dentinária (Draenert et al., 2013), levando a uma maior experiência de hipersensibilidade pós-operatória e maior necessidade do consumo de analgésicos.

A análise do exsudato inflamatório (GCF) coletado dos sítios submetidos ao procedimento cirúrgico demonstrou um aumento significativo na concentração de IL-10 aos 6 meses em relação ao *baseline* no grupo teste. Tal fato é particularmente importante devido ao fato de a IL-10 desempenhar um papel decisivo na resolução do processo inflamatório (Taylor, 2010). Quando os dados iniciais foram analisados, não foram encontradas correlações significantes entre parâmetros clínicos e imunológicos, tanto no grupo teste quanto no grupo controle. Contudo, passados 6 meses dos procedimentos cirúrgicos, foram observadas no grupo teste correlações negativas significantes ($p<0,05$) entre a frequência de fechamento das bolsas (Red) e a concentração de MMP-2 ($r=-0,68$; $p=0,008$), assim como entre Red e MMP-9 ($r=-0,56$; $p=0,045$), achados que podem ser complementados pela diminuição significativa na concentração de TIMP-2, citocina envolvida na proteção do tecido frente a ação de MMPs.

Frente ao exposto, os resultados do presente estudo adicionam informações importantes para o manejo de pacientes acometidos por periodontite agressiva. Porém, a comparação dos resultados deste estudo com a literatura é dificultada por não haver relatos sobre aplicação de terapias sistêmicas adjuvantes ao acesso para raspagem e alisamento radicular em

periodontite, crônica ou agressiva. Portanto, o desenvolvimento de novos estudos com outros delineamentos e uma maior amostra se fazem necessários para confirmar os resultados.

3.5 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, concluiu-se que o emprego adjuvante da suplementação sistêmica de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 (900 mg) e aspirina em baixa dosagem (100 mg) por 180 dias promoveu diferenças clínicas significantes no tratamento de bolsas residuais de pacientes com periodontite agressiva generalizada.

REFERÊNCIAS*

Aimetti M, Romano F, Guzzi N, Carnevale G. One-stage full-mouth disinfection as a therapeutic approach for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2011;82(6):845-53. doi:10.1902/jop.2010.100468 PMID:21091345.

Ainamo JS, Bay I. Problems and Proposals for Recording Gingivitis and Plaque. *Int Dent J.* 1976;25:229-35. PMID:1058834.

American Academy of Periodontology. American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2015;86(7):835-8. doi:10.1902/jop.2015.157001. PMID:26125117.

Andere NMRB, Castro Dos Santos NC, Araujo CF, Mathias IF, Taiete T, Casarin RCV, et al. Clarithromycin as an Adjunct to One-Stage Full-Mouth Ultrasonic Periodontal Debridement in Generalized Aggressive Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol.* 2017;88(12):1244-52. doi:10.1902/jop.2017.170165. PMID: 28671507.

Araujo CF, Andere NMRB, Castro Dos Santos NC, Mathias-Santamaria IF, Reis AA, de Oliveira LD, et al. Two different antibiotic protocols as adjuncts to one-stage full-mouth ultrasonic debridement to treat generalized aggressive periodontitis: A pilot randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2019;90(12):1431-40. doi: 10.1002/JPER.18-0399. PMID:31257591.

Ardila CM, Granada MI, Guzman IC. Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2010;45(4):557-63. doi:10.1111/j.1600-0765.2010.01274.x. PMID:20546113.

Arita M, Clish CB, Serhan CN. The contributions of aspirin and microbial oxygenase to the biosynthesis of anti-inflammatory resolvins: novel oxygenase products from omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;338(1):149-57. doi:10.1016/j.bbrc.2005.07.181. PMID:16112645.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4:1-6. doi:10.1902/annals.1999.4.1.1. PMID:4492242.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2019 Jan 2019]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2004;34:9-21. doi:10.1046/j.0906-6713.2002.003421.x. PMID:14717852.

Armitage GC, Cullinan MP, Seymour GJ. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis: introduction. *Periodontol 2000*. 2010;53:7-11. doi:10.1111/j.1600-0757.2010.00359.x. PMID:20403101.

Azoubel MC, Sarmiento VA, Cangussú V, Azoubel E, Bittencourt S, Cunha FQ, et al. Adjunctive benefits of systemic etoricoxib in non-surgical treatment of aggressive periodontitis: short-term evaluation. *J Periodontol*. 2008;79(9):1719-25. doi:10.1902/jop.2008.080019. PMID:18771374.

Bertl K, Parllaku A, Pandis N, Buhlin K, Klinge B, Stavropoulos A. The effect of local and systemic statin use as an adjunct to non-surgical and surgical periodontal therapy-A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2017;67:18-28. doi:10.1016/j.jdent.2017.08.011. PMID:28855141.

Blaser M. Antibiotic overuse: stop the killing of beneficial bacteria. *Nature*. 2011;476:393-4. doi:10.1038/476393a. PMID:21866137.

Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(6):1505-19. doi:10.1093/ajcn/83.6.1505S. PMID: 16841861.

Calder, PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res*. 2008;52:885-97. doi:10.1002/mnfr.200700289. PMID:18504706.

Casarin RC, Peloso Ribeiro ED, Sallum EA, Nociti FH, Gonçalves RB, Casati MZ. The combination of amoxicillin and metronidazole improves clinical and microbiologic results of one-stage, full-mouth, ultrasonic debridement in aggressive periodontitis treatment. *J Periodontol*. 2012;83(8):988-98. doi:10.1902/jop.2012.110513. PMID: 22288485.

Castro Dos Santos NC, Andere NM, Araujo CF, de Marco AC, Kantarci A, Van Dyke TE, et al. Omega-3 PUFA and aspirin as adjuncts to periodontal debridement in patients with periodontitis and type 2 diabetes mellitus. Randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2020. doi:10.1002/JPER.19-0613. [Epub ahead of print]. PMID:32103495.

Chan A, Tetzlaff JM, Altman DG, Laupacis A, Gøtzsche PC, Krleža-Jerić K, et al. SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials. *Ann Intern Med.* 2013;158:200-7. doi:10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583. PMID:23295957.

Ciancio SG. Systemic medications: clinical significance in periodontics. *J Clin Periodontol.* 2002;29(2):17-21. PMID:12087965.

Clemens JD, Herrick MV, Singer FR, Eyre DR. Evidence that serum NTx (collagen-type I N-telopeptides) can act as an immunochemical marker of bone resorption. *Clin Chem.* 1997;43(11):2058-63. PMID:9365389.

Conselho Federal de Odontologia. Código de ética odontológica [internet]. Rio de Janeiro: Conselho Federal de Odontologia; 2013 [acesso em 2019 Jun 03]. 20 p. Disponível em: http://cfo.org.br/website/wp-content/uploads/2018/03/codigo_etica.pdf.

Conselho Nacional de Saúde. Resolução 466/2012, de 12 de dezembro de 2012. DOU nº 12 [internet]; 2013 [acesso em 2019 Jun 03]. 12 p. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>.

Darveau RP, Pham TT, Lemley K, Reife RA, Bainbridge BW, Coats SR, et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infect Immun.* 2004;72(9):5041-51. doi:10.1128/IAI.72.9.5041-5051.2004. PMID:15321997.

Del Peloso Ribeiro E, Bittencourt S, Sallum EA, Nociti FH, Gonçalves RB, Casati MZ. Periodontal debridement as a therapeutic approach for severe chronic periodontitis: a clinical, microbiological and immunological study. *J Clin Periodontol.* 2008;35(9):789-98. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01292.x. PMID:18647203.

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 randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *J Periodontal Implant Sci.* 2014;44(1):25-32. doi:10.5051/jpis.2014.44.1.25. PMID:24616831.

Draenert ME, Jakob M, Kunzelmann KH, Hickel R. The prevalence of tooth hypersensitivity following periodontal therapy with special reference to root scaling. A systematic review of the literature. *Am J Dent.* 2013;26(1):21-7. PMID:23724545.

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. PMID:23574466.

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. PMID: 20572767.

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;50(6):721-9. doi: 10.1111/jre.12257. PMID: 25604769.

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. PMID:23016867.

Ford PJ, Gamonal J, Seymour GJ. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010;53:111–23. doi:10.1111/j.1600-0757.2010.00349.x. PMID:20403108.

Fredman G, Oh SF, Ayilavarapu S, Hasturk H, Serhan CN, Van Dyke TE. Impaired phagocytosis in localized aggressive periodontitis: rescue by Resolvin E1. *PLoS One*. 2011;6(9):e24422. doi:10.1371/journal.pone.0024422. PMID:21935407.

Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):149-64. doi:10.1111/prd.12034. PMID:23931059.

Gholizadeh P, Pormohammad A, Eslami H, Shokouhi B, Fakhrzadeh V, Kafil HS. Oral pathogenesis of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Microb Pathog*. 2017;113:303–11. doi:10.1016/j.micpath.2017.11.001. PMID:29117508.

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. PMID:7775665.

Graves DT, Fine D, Teng YT, et al. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2008;35(2):89-105. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01172.x. PMID:18199146.

Graziani F, Karapetsa D, Mardas N, Leow N, Donos N. Surgical treatment of the residual periodontal pocket. *Periodontol 2000*. 2018;76(1):150-63. doi:10.1111/prd.12156. PMID:29193404.

Griel AE, Kris-Etherton PM, Hilpert KF, Zhao G, West SG, Corwin RL. An increase in dietary n-3 fatty acids decreases a marker of bone resorption in humans. *Nutr J*. 2007;6:2. doi:10.1186/1475-2891-6-2. PMID:17227589.

Griffiths GS, Ayob R, Guerrero A, Nibali L, Suvan J, Moles DR, et al. Amoxicillin and metronidazole as an adjunctive treatment in generalized aggressive periodontitis at initial therapy or retreatment. A randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011;38:43-9. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01632.x. PMID:21062335.

Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol*. 1999;14(5):326-30. PMID:10551161.

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. PMID:12590139.

Hujoel PP. Endpoints in periodontal trials: the need for an evidence-based research approach. *Periodontol 2000*. 2004;36:196–204. doi:10.1111/j.1600-0757.2004.03681.x. PMID:15330950.

Kantarci A, Van Dyke TE. Resolution of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2005; 76(11):2168-74. doi:10.1902/jop.2005.76.11-S.2168. PMID:16277590.

Keestra JAJ, Grosjean I, Coucke W, Quirynen M, Teughels W. Non-surgical periodontal therapy with systemic antibiotics in untreated aggressive periodontitis patients: a systematic review and meta-analysis. *J Periodont Res*. 2015; 50:689–706. doi:10.1111/jre.12252. PMID:25522248.

Kirkland O. The Suppurative Periodontal Pus Pocket; Its Treatment by the Modified Flap Operation. *JADA*. 1931;18(8):1462-70. doi:10.14219/jada.archive.1931.0237.

Kris-Etherton PM, Taylor DS, Yu-Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, et al. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(1):179S–88S. doi:10.1093/ajcn/71.1.179S. PMID:10617969.

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. PMID:16018754.

Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, et al. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol*. 2008;35(8):685-95. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01245.x. PMID:18549447.

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:10.1136/bmj.c869. PMID:20332511.

Mupparu M, Singer SR. The American Society of Anesthesiologists (ASA) physical status classification system and its utilization for dental patient evaluation. *Quintessence Int*. 2018;49(4):255-6. doi:10.3290/j.qi.a40053. PMID:29532816.

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: 10.1177/0022034514541125. PMID:24970858.

Novak MJ, Johns LP, Miller RC, Bradshaw MH. Adjunctive benefits of subantimicrobial dose doxycycline in the management of severe, generalized, chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2002;73:762-9. doi:10.1902/jop.2002.73.7.762. PMID:12146536.

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. PMID:18166090.

Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* 2018;89:173-82. doi:10.1002/JPER.17-0721. PMID:29926951.

Paquette DW, Williams RC. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2000;24:239-52. doi:10.1034/j.1600-0757.2000.2240112.x. PMID:11276870.

Preshaw PM, Hefti AF, Jepsen S, Etienne D, Walker C, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis: a review. *J Clin Periodontol*. 2004;31:697-707. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00558.x. PMID:15312090.

Podzimek S, Mysak J, Janatova T, Duskova J. C-Reactive Protein in Peripheral Blood of Patients with Chronic and Aggressive Periodontitis, Gingivitis, and Gingival Recessions. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:564858. doi:10.1155/2015/564858. PMID:26346216.

Rabelo CC, Feres M, Gonçalves C, Figueiredo LC, Faveri M, Tu YK, et al. Systemic antibiotics in the treatment of aggressive periodontitis. A systematic review and a Bayesian Network meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2015;42(7):647-57. doi:10.1111/jcpe.12427. PMID:26087839.

Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *J Periodontol*. 2014;85(1):160-9. doi:10.1902/jop.2013.130142. PMID:23688097.

Renvert S, Persson GR. A systematic review on the use of residual probing depth, bleeding on probing and furcation status following initial periodontal therapy to predict further attachment and tooth loss. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):82-9,90-1. PMID:12787209.

Ribeiro Edel P, Bittencourt S, Zanin IC, Bovi Ambrosano GM, Sallum EA, Nociti FH, et al. Full-mouth ultrasonic debridement associated with amoxicillin and metronidazole in the treatment of severe chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2009;80(8):1254-64. doi:10.1902/jop.2009.080403. PMID:19656025.

Ryder MI. Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010;53:124-37. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00327.x. PMID:20403109.

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. doi:10.1084/jem.20020760. PMID:12391014.

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. PMID: 15290791.

Serhan CN. Systems approach with inflammatory exudates uncovers novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2008;79(3-5):157-63. doi:10.1016/j.plefa.2008.09.012. PMID:19008087.

Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and antiinflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol*. 2008;153:200-15. doi:10.1038/sj.bjp.0707489. PMID:17965651.

Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: Dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:349-61. doi:10.1038/nri2294. PMID:18437155.

Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of systemic amoxicillin/metronidazole as an adjunctive therapy to full-mouth scaling and root planing in the treatment of aggressive periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2012;83:731-43. doi:10.1902/jop.2011.110432. PMID:22050545.

Silva-Senem MX, Heller D, Varela VM, Torres MCB, Feres-Filho EJ, Colombo APV. Clinical and microbiological effects of systemic antimicrobials combined to an anti-infective mechanical debridement for the management of aggressive periodontitis: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2013;40:242–51. doi:10.1111/jcpe.12052. PMID:23297772.

Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*. 2002;56(8):365-79. doi:10.1016/s0753-3322(02)00253-6. PMID:12442909.

Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(6):674-88. doi:10.3181/0711-MR-311. PMID:18408140.

Taiete T, Casati MZ, Martins L, Andia DC, Mofatto LS, Coletta RD, et al. Novel rare frameshift variation in aggressive periodontitis: Exomic and familial-screening analysis. *J Periodontol*. 2020;91(2):263-73. doi:10.1002/JPER.19-0182. PMID:31373687.

Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*. 2010;54(1):160-94. doi:10.1111/j.1600-0757.2009.00344.x. PMID:20712639.

Teughels W, Dhondt R, Dekeyser C, Quirynen M. Treatment of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014;65(1):107-33. doi:10.1111/prd.12020. PMID: 24738589.

Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):82-90. doi:10.1177/154405910308200202. PMID:12562878.

van Winkelhoff AJ, Herrera D, Oteo A, Sanz M. Antimicrobial profiles of periodontal pathogens isolated from periodontitis patients in The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol*. 2005;32(8):893-8. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00782.x. PMID: 15998275.

Vieira AR, Albandar JM. Role of genetic factors in the pathogenesis of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014;65(1):92–106. doi:10.1111/prd.12021. PMID:24738588.

Wang CW, Colas RA, Dalli J, Arnardottir HH, Nguyen D, Hasturk H, et al. Maresin 1 Biosynthesis and Proresolving Anti-infective Functions with Human-Localized Aggressive Periodontitis Leukocytes. *Infect Immun*. 2015;84(3):658-65. doi:10.1128/IAI.01131-15. PMID:26667839.

Yang M, Li L, Soh Y, Heo SM. Effects of omega-3 fatty acids and aspirin on *Porphyromonas gingivalis* -induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2019;90(11):1307-19. doi:10.1002/JPER.19-0063. PMID:31106412.

Zandbergen D, Slot DE, Cobb CM, Van der Weijden FA. The clinical effect of scaling and root planing and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole: a systematic review. *J Periodontol*. 2013;84(3):332-51. doi:10.1902/jop.2012.120040. PMID:22612369.

ANEXO A – Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa referente ao item 2

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA	
Título da Pesquisa:	Efeito da terapia de modulação do hospedeiro por meio da suplementação diária de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e aspirina na fase não-cirúrgica do tratamento de periodontite agressiva generalizada: estudo clínico controlado randomizado
Pesquisador Responsável:	CASSIA FERNANDES ARAUJO
Área Temática:	
Versão:	2
CAAE:	66096817.3.0000.0077
Submetido em:	23/04/2017
Instituição Proponente:	Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP
Situação da Versão do Projeto:	Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto:	Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal:	Financiamento Próprio




 Comprovante de Recepção:

PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_885594

ANEXO B – Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa referente ao item 3

- DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA	
Título da Pesquisa:	Efeito da terapia de modulação do hospedeiro por meio da suplementação diária de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e aspirina na fase cirúrgica do tratamento de periodontite agressiva generalizada: Estudo clínico controlado randomizado
Pesquisador Responsável:	CASSIA FERNANDES ARAUJO
Área Temática:	
Versão:	2
CAAE:	66097017.7.0000.0077
Submetido em:	24/04/2017
Instituição Proponente:	Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP
Situação da Versão do Projeto:	Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto:	Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal:	Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_885639