

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
dissertação será disponibilizado
somente a partir de 06/03/2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Relação do potencial mutagênico, doença periodontal e perfil glicêmico

Araraquara

2020



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Karen Basilia Rivera Poquechoque

Relação do potencial mutagênico, doença periodontal e perfil glicêmico

Dissertação de Mestrado apresentada à
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Odontologia de Araraquara, do
Programa de Odontologia, na Área de
Periodontia.

**Orientador: Profa. Dra. Ticiane Sidorenko
de Oliveira Capote**

**Coorientadora: Profa. Dra. Raquel
Mantuanelli Scarel-Caminaga**

Araraquara

2020

Poquechoque, Karen Basilia Rivera

Relação do potencial mutagênico, doença periodontal e perfil glicêmico / Karen Basilia Rivera Poquechoque.- Araraquara: [s.n.], 2020

57 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador: Profa. Dra. Ticiane Sidorenko de Oliveira Capote

Coorientador.: Profa. Dra. Raquel Mantuanelli Scarel-Caminaga

1. Doenças periodontais 2. Diabetes Mellitus
3. Mutagênese I. Título

Karen Basilia Rivera Poquechoque

Relação do potencial mutagênico, doença periodontal e perfil glicêmico

Comissão julgadora

Exame de Qualificação de Mestrado

Presidente e orientador: Profa. Dra. Ticiania Sidorenko de Oliveira Capote

1° Examinador: Prof. Dr. Fábio Renato Manzolli Leite

2° Examinador: Profa. Dra. Rosemay Adriana Chiéríci Mancantonio

Araraquara, 23 de março de 2020.

DADOS CURRICULARES

Karen Basília Rivera Poquechoque

NASCIMENTO 05 de Setembro de 1993 – Rio de Janeiro – RJ

FILIAÇÃO Mary Vicitacion Rivera Rendon de Poquechoque
Freddy Poquechoque Morales

2012/2015 Curso de Graduação em Odontologia no Centro Universitário de Araraquara - UNIARA.

2018/2020 Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Periodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedico esta dissertação, aos meus pais, Freddy e Mary, que são minha base, me repassaram todos seus valores e ideais, me apoiaram e deram força nessa etapa.

Às minhas irmãs, Marizol e Carolina, que sempre estão comigo me protegendo desde pequena, me aconselhando em vários momentos, e desejando o sucesso na vida. Aos meus cunhados, Rodrigo e Renato, que estão sempre apoiando minhas irmãs e proporcionaram momentos agradáveis e felizes. E para minhas sobrinhas, a Alanna e a Alexia, as quais dão energia e alegria para nossa família.

Minha sincera dedicação e agradecimento por estarem comigo em mais uma etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por resguardar toda minha família a seus cuidados, por nos proteger e por seu amor incondicional.

Ao Arcanjo São Miguel, guardião e anjo protetor da minha família.

À minha orientadora Profa. Dra. Ticiane Sidorenko de Oliveira Capote, agradeço por passar seus ensinamentos, sendo sempre muito atenciosa e paciente comigo. Aprendi muito tanto no profissional como também na sua essência pessoal, como ter mais empatia com as pessoas ao redor. Sou imensamente grata por todo esforço que você fez para que este trabalho fosse concluído.

À equipe do laboratório de Genética Molecular, que tive a honra de fazer parte: Diego, Ingra, Marco e, principalmente, Thamiris, que me passou todo seu conhecimento e sempre estava disposta a ajudar, e que através do seu projeto de pesquisa (financiado pela FAPESP – nº 2016/08070-6) contribuiu para realização da minha dissertação.

Ao Prof. Dr. Marcell Medeiros, pelos ensinamentos e treinamento transmitidos no início das atividades da pesquisa.

A todos os professores da pós-graduação em Odontologia da FOAr/UNESP pelos seus ensinamentos e incentivarem a todos os alunos a serem excelentes mestres.

À Profa. Dra. Raquel M. Scarel-Caminaga por ter me acolhido, me dado a oportunidade de participar desta experiência na minha vida e ter me ensinado sobre a área que trabalhei, me ajudando a expandir meus conhecimentos.

À Profa. Dra. Silvana R. Perrez Orrico por toda colaboração, auxílio, disponibilidade e esclarecimentos passados para melhor compreensão da minha pesquisa, me repassando todo seu conhecimento científico e profissional.

Aos Prof. Dr. Fabio Renato Manzolli Leite e Prof. Dr. Gustavo Giacomelli Nascimento, da Universidade de Aarhus (Dinamarca), pela colaboração e enriquecimento da pesquisa.

Aos meus amigos de mestrado por proporcionarem momentos felizes e agradáveis. Mesmo sendo uma turma heterogênea, estávamos sempre unidos e sendo companheiros com todos. Especialmente, Dania, Flávia, Lorena e Renata, que levarei comigo a amizade, agradeço a compreensão e carinho que criamos neste período.

Ao Departamento de Morfologia e Clínica Infantil: Margarete Bueno de Moraes, Marcelo Brito Conte, Prof. Dra. Marcela de Almeida Gonçalves, por sempre estarem dispostos a ajudar e por um convívio diário agradável.

A todos funcionários da FOAr: a equipe da limpeza, porteiros, equipe da seção de pós-graduação, equipe de laboratório da Periodontia, equipe de recepção aos pacientes, pelo convívio diário na faculdade e que sempre estiveram à disposição para nos ajudar.

Aos funcionários do laboratório de análises clínicas – “Centro de referência diagnóstica” da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, que foram atenciosos e muito colaboradores durante o processo de coleta dos exames bioquímicos.

Ao programa de pós-graduação em Odontologia em nome do Prof. Dr. Joni Cirelli, coordenador do programa, pela oportunidade de realização do mestrado e contribuição na minha vida profissional.

A todos os pacientes que participaram da pesquisa, foram essenciais para a realização deste trabalho.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr - Unesp, na pessoa de sua Diretora, Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato e de seu Vice-Diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos, por proporcionarem uma estrutura de qualidade e ensino de excelência.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2016/03753-8, 2016/08070-6) pelo apoio financeiro para realização dessa pesquisa.

À CAPES. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

*"Don't only practice your art, but force your way into its secrets,
for it and knowledge can raise men to the Divine"*

Ludwig van Beethoven (1770-1827)

Poquechoque KBR. Relação do potencial mutagênico, doença periodontal e perfil glicêmico. [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

A doença periodontal (DP) é uma desordem imunoinflamatória, disbiótica, multifatorial e com suscetibilidade genética. Estudos demonstraram a associação entre periodontite e diabetes mellitus (DM). Considerando que tanto o DM como a DP estão associadas a um estado de inflamação crônica e a uma produção aumentada de espécies reativas de oxigênio, elas podem estar relacionadas à produção de danos no DNA. Portanto, o objetivo deste projeto foi investigar a relação da periodontite crônica com perfil glicêmico e danos no DNA. Foram realizados exames bioquímicos (Hemoglobina glicada - HbA1c; Glicemia jejum; Insulina; Colesterol total; Triglicérides) e periodontais, avaliação de indicadores antropométricos de obesidade (IMC e relação quadril/cintura), e avaliação do dano ao DNA pelo ensaio de micronúcleo pelo bloqueio da citocinese (CBMN) em linfócitos, observando a frequência de células binucleadas com micronúcleo (FBMN) e a frequência de micronúcleo (FMN). Os pacientes foram divididos conforme seus níveis glicêmicos e seu perfil periodontal em três grupos: grupo A, n=37, sem periodontite e sem DM tipo 2 - DM2; grupo B, n=47, com periodontite, sem DM2; grupo C, n=19, com periodontite e com DM2. Regressão multivariada de Poisson foi realizada utilizando a FBMN ou a FMN como variáveis dependentes. Os valores foram estimados em razão de taxa com seus respectivos intervalos de confiança definidos em 95% (IC 95%). Os parâmetros periodontais dos pacientes diabéticos e com periodontite estavam significativamente alterados em relação aos grupos controle e grupo com periodontite, além de apresentarem valores significativamente maiores para triglicérides, índice HOMA e hemoglobina glicada. Não foram observadas diferenças quanto ao IMC e a relação quadril/cintura. O potencial mutagênico não aumentou de acordo com a idade, colesterol total e triglicérides. A presença de periodontite, o diagnóstico de DM e o índice HOMA elevado contribuiu para o aumento de FBMN e FMN, porém quando avaliado a interação entre periodontite e diabetes, e periodontite e HOMA elevado, houve uma diminuição de FBMN e FMN. Pôde-se concluir que a periodontite e o DM isoladamente levaram ao aumento do potencial mutagênico.

Palavras-chave: Doença periodontal. Diabetes Mellitus. Mutagênese

Poquechoque KBR. Relation of mutagenic potential, periodontal disease and glycemic. [master's degree dissertation]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

Periodontal disease (PD) is an immunoinflammatory, dysbiotic, multifactorial disorder with genetic susceptibility. Studies demonstrated the association between periodontitis and diabetes mellitus (DM). Considering that both DM and PD are associated with chronic inflammation and an increased production of reactive oxygen species, they may be related to the production of DNA damage. Therefore, the aim of this study was to verify the relation between chronic periodontitis, glycemic profile and DNA damage. Biochemical tests (glycated hemoglobin - HbA1c; fasting glycemia; insulin; total cholesterol; triglycerides) and periodontal examination, evaluation of anthropometric indicators of obesity (BMI and waist/hip ratio - WHR), and DNA damage evaluation by cytokinesis-block micronucleus assay (CBMN) in lymphocytes, observing the frequency of binucleated cells with micronucleus (FBMN), and frequency of micronucleus (FMN). The patients were divided according to their glycemic levels and periodontal profile into three groups (group A, n = 37, without periodontitis and without type 2 DM - DM2; group B, n = 47, with periodontitis, without DM2; group C, n = 19, with periodontitis and DM2). Poisson Multivariate Regression was performed using FBMN or FMN as dependent variables. The values were estimated as rate ratio (RR) with their respective 95% confidence intervals (95% CI). Poor periodontal parameters were observed in diabetic and periodontitis patients compared to the control group and periodontitis group, besides presenting significantly higher values for triglycerides, HOMA index and glycated hemoglobin. There were no differences in BMI and hip/waist ratio. The mutagenic potential did not increase according to age, total cholesterol and triglycerides. The presence of periodontitis, the diagnosis of DM and the high HOMA index contributes to an increase in FBMN and FMN, however when the interaction between periodontitis and diabetes, and periodontitis and high HOMA index was evaluated, there was a reduction in FBMN and FMN. It was concluded that isolated periodontitis and DM increased the mutagenic potential.

Keywords: Periodontal disease. Diabetes Mellitus. Mutagenesis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 PROPOSIÇÃO	22
3 PUBLICAÇÃO	23
4 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE A (Materiais e métodos)	53

1 INTRODUÇÃO

A Doença Periodontal (DP) é uma desordem imunoinflamatória complexa de natureza multifatorial ¹. O estágio inicial da DP é a gengivite e tem como principal característica a inflamação do tecido gengival ². A inflamação ocorre nos tecidos gengivais devido à presença do biofilme bacteriano aderente às superfícies dentárias ². O tratamento à gengivite pode ser prevenida por meio de higiene oral regular que inclui escovação e uso de fio dental ^{3,4}. Assim, na ausência de tratamento, a progressão da doença pode levar à destruição do tecido gengival e das estruturas que compõem o periodonto de sustentação (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar), ocorrendo perda de inserção periodontal, associada ao sangramento à sondagem e à reabsorção do osso alveolar, tornando-se evidente radiograficamente ⁵, diagnosticando-se assim, a periodontite ⁵⁻⁷. Os estudos demonstram que a periodontite é a consequência da gengivite ^{3,4}.

A DP é formada por um grupo bacteriano específico ², sendo o fator etiológico primário da DP os micro-organismos periodontopatogênicos como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ^{8,9}. Sabe-se, porém, que somente essas bactérias são insuficientes para que a doença seja gerada, sendo que a resposta do hospedeiro contribui, principalmente, no dano tecidual na DP e não pela ação bacteriana direta e de seus produtos ⁹⁻¹¹. A cascata inflamatória tem como função primordial proteger o organismo contra agentes estranhos, entretanto, quando a resposta imune é incapaz de eliminar esses microrganismos, os mediadores inflamatórios prevalecem nos tecidos gengivais podendo levar a danos, como a consequência da formação de bolsa periodontal, perda de tecido conjuntivo, destruição do ligamento periodontal e reabsorção de osso alveolar, podendo resultar na perda dentária ¹².

Estudos apontam que diversos fatores, tais como doenças sistêmicas, fatores ambientais (tabagismo) e herança genética, estão relacionados com o início e progressão da DP do hospedeiro ^{1,10,13}.

A relação entre DP e as doenças sistêmicas tem sido extensamente examinada durante muito tempo. Na classificação de doenças periodontais, a Academia Americana de Periodontia e a Federação Europeia de Periodontia

(2018)⁶ incluem a periodontite como manifestação de doenças sistêmicas. A associação da periodontite ao diabetes pode ser reconhecida como a sexta maior complicação ¹⁴⁻¹⁶, sendo que foi detectada maior extensão e severidade da doença periodontal em indivíduos portadores de diabetes do que naqueles não portadores da doença ^{6,13}.

O diabetes mellitus (DM) é uma desordem metabólica que envolve primariamente os carboidratos, seguido dos lipídeos e proteínas, sendo caracterizado pela hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina ou ambos. Como resultado direto da hiperglicemia e do desequilíbrio osmótico, as características clínicas dos sintomas são desenvolvidas, poliúria, polidipsia, perda de peso e algumas vezes polifagia, e visão embaçada ¹⁷. O desenvolvimento do DM tem relação a fatores de risco ambientais, genéticos e comportamentais ¹⁸. Estima-se que atualmente aproximadamente 463 milhões de pessoas em todo o mundo apresentem diabetes, e esse número deve aumentar para 700 milhões em 2045 ^{18,19}.

Atualmente, os tipos mais comuns de DM são tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2). Esses dois tipos de diabetes possuem etiopatogenias diferentes. O DM1 está relacionado à destruição autoimune das células beta do pâncreas, levando a uma deficiência absoluta de insulina. Normalmente, o diabetes tipo 1 é diagnosticado em crianças e adolescentes. Já o DM2, apresenta graus variados de diminuição de secreção e resistência à insulina ^{13,14,19,20}. O diabetes mellitus tipo 1 representa 5% a 10% dos casos diagnosticados; já o diabetes mellitus tipo 2 é o tipo mais comum, constituindo cerca de 90% de todos os casos de diabetes mellitus ^{14,17}.

1.1 Relação doença periodontal e diabetes mellitus

A DP e o DM são doenças crônicas muito prevalentes e complexas ¹⁶. Indivíduos com DM2 apresentam duas vezes o risco de desenvolver periodontite em comparação com não diabéticos ²¹. Segundo Baeza et al. (2020)²¹, quase todos os pacientes com DM2 apresentam periodontite simultaneamente. Há interações entre as duas doenças que têm implicações clínicas importantes para profissionais de odontologia, médicos e, principalmente pacientes ¹⁶.

Os fatores de risco para ambas doenças incluem idade elevada, sexo masculino, baixo nível socioeconômico, predisposição genética, principalmente relacionado a respostas imunológicas deficientes, tabagismo, obesidade, baixa atividade física e dieta não saudável ¹⁸.

Há uma relação bidirecional entre diabetes mellitus e periodontite ^{16,18,21-23}. O diabetes, particularmente se o controle glicêmico é deficiente, está associado a um aumento da prevalência e gravidade da periodontite e a periodontite severa está associada ao controle glicêmico comprometido ¹⁶.

O mecanismo específico que associa DM e DP ainda não foi totalmente elucidado.

Estudos confirmaram uma associação significativa entre hiperglicemia crônica e uma alta prevalência de periodontite. Embora essa evidência se concentre particularmente nos efeitos do DM2, o efeito parece ser semelhante, embora menos investigado no DM1 ²⁴⁻²⁶. No início da doença, muitos pacientes com DM2 apresentam pouca sintomatologia geral devido à hiperglicemia aparecer gradualmente, permanecendo sem diagnóstico por um longo tempo ¹⁰. O controle glicêmico parece ser particularmente importante no desenvolvimento e severidade da periodontite. No entanto, há indicações de que outros distúrbios metabólicos também desempenham um papel, como a dislipidemia, a resistência à insulina e, especialmente, a disfunção imunológica ²⁷.

O DM provoca uma resposta hiperinflamatória em resposta aos microrganismos presentes no periodonto e prejudica os processos reparadores, levando à exacerbação da alteração periodontal. A desregulação metabólica no diabetes como resultado da exposição prolongada à hiperglicemia crônica pode levar à glicação de proteínas e lipídios (AGEs) e pelo receptor para AGEs (RAGES) ^{21,22,28}. Os AGEs são produzidos fisiologicamente pelo organismo, mas em condições de hiperglicemia ou estresse oxidativo aumentado, sua presença é amplamente aumentada ^{2,28}. O DM prejudica os processos reparadores pela ativação de RAGE e citocinas inflamatórias, que exacerbam a destruição periodontal por microrganismos periodontais, como *Porphyromonas gingivalis*. Por outro lado, a periodontite promove um estado inflamatório sistêmico e exacerba a resistência à insulina e o controle glicêmico ^{22,28}. A infecção periodontal pode causar inflamação sistêmica por bacteremia contínua de baixo grau ou por liberação de citocinas pró-inflamatórias na corrente

sanguínea produzidas na gengiva. Por sua vez, AGEs são produzidos, o que contribui para o aparecimento de diabetes por meio de aumento da desregulação do controle metabólico ^{18,28}. Assim, acaba existindo uma via de mão dupla e a relação bidirecional entre DM e DP.

A destruição local do tecido periodontal pode ser uma consequência de uma resposta inflamatória monocítica exagerada induzida pelo acúmulo de AGEs e resultar em secreção exagerada de mediadores locais e sistêmicos, levando à periodontite severa. A ligação dos AGEs aos receptores de monócitos induz a produção de interleucina-1 (IL-1), IL-6, fator de crescimento semelhante à insulina-1, proteína C reativa, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e fator de crescimento derivado de plaquetas ^{21,23,28}. Além disso, o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), estresse oxidativo e interações entre AGEs nos tecidos periodontais e seus receptores (RAGES) contribuem para o aumento da inflamação nos tecidos periodontais em pessoas com diabetes ^{16,28}.

1.2 Estresse oxidativo e periodontite

A periodontite severa também está associada à dislipidemia e elevações nos marcadores de estresse oxidativo em indivíduos com DM2 ²³.

O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre a produção excessiva de algumas espécies de moléculas altamente reativas e o mecanismo de defesa antioxidante ²⁹⁻³¹, significativamente implicado na patogênese de doenças degenerativas e inflamatórias crônicas, como a DP crônica e DM ³¹. As espécies reativas de oxigênio (EROs) ou radicais livres de oxigênio são produtos do metabolismo celular normal, no entanto, seus níveis aumentados desequilibrados interrompem a função celular normal ²⁹.

Os radicais livres, apesar de desempenharem funções fisiológicas, têm sido associados à patogênese de diversas desordens ³². Sabe-se que em sítios de inflamação crônica ocorre uma produção anormal de espécies reativas de oxigênio (EROs) ³³ e que tais compostos passam a contribuir para a injúria inflamatória dos tecidos do hospedeiro, deixando de exercer uma função meramente fisiológica ³⁴.

Apesar de haver outros processos envolvidos, o excesso de glicose é o principal responsável pela grande produção de radicais livres em pacientes

diabéticos. Além disso, pacientes com DM2 apresentam uma defesa antioxidante deficiente em relação a indivíduos normais ^{35,36}.

O aumento na produção de ERO também tem sido atribuído à glicação de proteínas ^{37,38} e/ou a uma auto-oxidação da glicose durante o processo de hiperglicemia ³⁹. Portanto, além dos AGEs, o estresse oxidativo passa a apresentar um papel importante tanto na patogênese como nas complicações do diabetes ⁴⁰. A hiperglicemia pode acarretar a glicação de enzimas antioxidantes, causando sua inativação ⁴¹.

As EROs causam danos aos tecidos por meio de múltiplos mecanismos, incluindo danos ao DNA, danos à peroxidação lipídica e oxidação enzimática. A peroxidação lipídica destrói os lipídios da membrana celular e inicia uma via de oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados, sintetizando o malondialdeído (MDA), mantendo as reações em cadeia ³⁰. A peroxidação lipídica apresenta um importante papel no envelhecimento, na aterosclerose ³³, no desenvolvimento de complicações do diabetes como alterações micro e macrovasculares ^{42,43}, na artrite reumatóide ⁴⁴, na doença pulmonar obstrutiva crônica ⁴⁵, na AIDS ⁴⁶ e ainda na doença periodontal ⁴⁷⁻⁵⁰.

O MDA, que pode indicar o nível de estresse oxidativo, é o produto primário e mais estável da peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados ³⁰. Foi observado um nível de MDA acentuadamente aumentado tanto em saliva como no fluido gengival crevicular de pacientes com DP, sendo demonstrado que quanto mais severa a inflamação periodontal, maior produção de MDA ³⁰. Indivíduos diabéticos têm níveis mais altos de MDA em seus tecidos periodontais, sugerindo um aumento da peroxidação lipídica no caso de DM ²⁹. Os níveis de MDA correlacionaram-se positivamente com a profundidade da bolsa em todos os pacientes com periodontite avaliados por Patil et al. (2016) ⁵¹.

As EROs provocam destruição tecidual periodontal ou pela degradação da substância fundamental ou pela liberação de collagenases ou pela liberação de vários mediadores inflamatórios ⁵¹.

Segundo D'Aiuto et al. (2010) ⁵², a periodontite está associada a um estado sistêmico de estresse oxidativo e à capacidade antioxidante global reduzida. A gravidade da destruição do tecido devido à ERO excessiva é maior

quando a DP está associada ao DM2, indicando que o estresse oxidativo é um fator comum envolvido na destruição do tecido ⁵¹

Masi et al. (2018) ⁵³ verificaram que uma produção reduzida de EROs mitocondriais de células imunoinflamatórias está associada a uma função endotelial melhorada em pacientes com DM2 e DP. Além disso, uma produção mais adequada de EROs mitocondriais é acompanhada por uma melhoria significativa do controle metabólico.

Sob condições fisiológicas normais, há um equilíbrio entre EROs e antioxidantes. O estresse oxidativo ocorre apenas quando o sistema de defesa antioxidante não pode neutralizar a produção elevada de ERO. Os antioxidantes podem ser classificados em duas categorias com base em seu modo de função. A primeira categoria compreende antioxidantes preventivos, incluindo antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx), glutathione redutase e enzimas de reparo do DNA, bem como alguns sequestradores de íons metálicos, como a albumina. A segunda categoria compreende antioxidantes eliminadores ou antioxidantes de quebra de cadeia, como ácido ascórbico (vitamina C), carotenóides (incluindo retinol-vitamina A), ácido úrico, α -tocoferol (vitamina E), glutathione reduzida e polifenóis ⁵⁴.

Assim, além da produção excessiva de ERO, o paciente pode apresentar uma diminuição de antioxidantes para combater os radicais livres. Chen et al. (2019) ³⁰ verificaram um nível mais baixo da capacidade antioxidante total (CAT) em pacientes com DP, comparado a pacientes sem DP. Isso sugeriu que a progressão da periodontite prejudica o equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, reduzindo a capacidade dos antioxidantes em regular o estresse oxidativo.

A periodontite pode influenciar a ação local e sistêmica de antioxidantes, podendo acarretar uma diminuição de antioxidantes enzimáticos, como SOD e catalase, e aumento da ação de antioxidantes enzimáticos entre pessoas com periodontite como reação protetora. Os resultados para antioxidantes não enzimáticos e catalase são consistentes e indicam capacidade antioxidante comprometida em pacientes com periodontite ⁵⁴. Vincent et al. (2019) ³¹ avaliaram a capacidade antioxidante total (CAT) e o estado oxidante total (EOT) no fluido gengival crevicular em paciente com DP e DM2.

Os autores verificaram que a CAT foi significativamente menor nos participantes com DP, DM e com ambas as condições da doença quando comparado ao grupo controle. Mostraram um evidente desequilíbrio entre o EOT e a atividade antioxidante, com a inclinação a favor de oxidantes elevados, provavelmente relacionados ao aumento do estresse oxidativo implicado nos dois processos da doença. Além disso, dos grupos estudados, o grupo de paciente com DP e DM foi o que apresentou menor valor de CAT. Isso pode ser atribuído à hiperglicemia, a principal causa de inflamação em diabéticos, e acredita-se também que aumenta a inflamação nos tecidos periodontais. Níveis excessivos de glicose induzem a produção de radicais livres e aumentam o estresse oxidativo. Esses mecanismos patológicos no diabetes, juntamente com a doença periodontal preexistente, podem ser responsáveis pela destruição periodontal exacerbada observada em diabéticos e também podem explicar o maior risco de periodontite em diabéticos. Assim, a coexistência de ambas as condições da doença reduziu ainda mais a capacidade antioxidante ³¹.

Uma diminuição da capacidade antioxidante (catalase, vitamina C, SOD) foi observada em indivíduos diabéticos e com periodontite de forma altamente significativa. Houve uma forte correlação positiva entre a produção excessiva de EROs e a profundidade da bolsa periodontal em indivíduos diabéticos com periodontite diabética, além desse grupo apresentar uma diminuição significativa da CAT e atividade da SOD ⁵¹.

Pode-se concluir que a gravidade da destruição do tecido devido à ERO excessiva é maior quando a doença periodontal está associada ao DM tipo 2, indicando que o estresse oxidativo é um fator comum envolvido na destruição do tecido ⁵¹.

1.3 Danos do DNA relacionados à DP e DM

Danos oxidativos ao material genético podem causar quebras na fita de DNA e micronúcleos (MN), e esses tipos de danos podem ter efeitos teratogênicos ou consequências cancerígenas ⁵⁵.

O teste do micronúcleo é considerado um dos métodos preferidos para avaliar o dano cromossômico, porque permite uma avaliação confiável de quebras e perdas cromossômicas.

Micronúcleos são pequenos núcleos adicionais formados a partir de fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos inteiros que aparecem durante a divisão celular mitótica no citoplasma das células em intérfase ⁵⁶. Devido à confiabilidade do ensaio CBMN e sua boa reprodutibilidade, tornou-se um dos testes citogenéticos padrão para testes de toxicologia genética em células humanas e de mamíferos ⁵⁷.

Na literatura, encontram-se estudos que avaliaram o dano ao DNA, utilizando teste do micronúcleo em diabéticos ^{55,58-65}, em pacientes com periodontite ⁶⁶⁻⁶⁹, e os que avaliaram ambas as patologias ^{70,71}.

O DM2 tem sido associado a níveis elevados de danos ao DNA, aumento da suscetibilidade a mutações e diminuição da eficácia do reparo do DNA ^{36,58,59,61,65}. Maior dano ao DNA nos diabéticos estão relacionados à hiperglicemia que acarreta no aumento do estresse oxidativo e da ERO ^{59,62,72}.

Maior frequência de micronúcleos foram observadas em pacientes com DM2 comparado a pacientes saudáveis ^{59-62,64,65}. Entretanto, Silva et al., (2013) ⁶³ demonstraram que a glicemia e a HbA1c não estavam significativamente correlacionados com o aumento de frequência de micronúcleos.

Karaman et al. (2015) ⁶¹ observaram um aumento na frequência de micronúcleos em pacientes com síndrome metabólica. Outros fatores que acarretaram número elevado de micronúcleos foram tercis mais altos da circunferência da cintura, glicose em jejum, hemoglobina glicada e risco de doença cardiovascular ⁶⁰. A obesidade também foi associada a maior frequência de micronúcleos em indivíduos obesos, sendo que o dano genômico promovido pela obesidade pode estar associada a um risco aumentado de câncer, porque um aumento na frequência de MN é um preditor de risco de câncer ⁷³.

A periodontite também pode ser um fator que eleva os danos oxidativos e ao DNA, sendo que foi constatado uma correlação positiva entre o estresse oxidativo produzido pela periodontite e micronúcleos ⁶⁹. Foi observado um aumento médio de 2,3 vezes na frequência de micronúcleos no grupo com periodontite moderada a severa ⁶⁶. Porém, Brandão et al. (2015) ⁶⁸ não observaram aumento do número de micronúcleos em decorrência da periodontite.

Ambos estudos que avaliaram o DM associado à periodontite verificaram que a associação dessas patologias promoveu aumento no número de micronúcleos comparada à presença isolada das doenças ^{70,71}.

Dos estudos que utilizaram o ensaio de micronúcleos como biomarcador de danos no DNA em indivíduos com diabetes e doença periodontal, como mencionado anteriormente, foram encontrados somente dois que avaliaram as duas patologias na mesma pesquisa ^{70,71}. Dentro desse contexto, propõe-se realizar esta pesquisa para contribuir efetivamente com o maior conhecimento do assunto, buscando-se verificar possíveis associações entre doença periodontal, DM tipo 2 e danos no DNA.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que a periodontite e o diabetes isoladamente levam ao aumento do potencial mutagênico, porém, quando associados, ocorre anulação do fator mutagênico. Indivíduos fumantes apresentaram aumento de micronúcleos. O IMC e a relação quadril-cintura, assim como a idade e triglicérides não interferiram no potencial mutagênico. Devido aos poucos estudos realizados em pacientes, futuras pesquisas serão necessárias com amostras maiores para maior precisão dos intervalos de confiança.

REFERÊNCIAS*

1. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. J Clin Periodontol. 2018; 89 Suppl 1: S9-S16
2. Marchetti E, Monaco A, Procaccini L, Mummolo S, Gatto R, Tete S, et al. Periodontal disease: the influence of metabolic syndrome. Nutr Metab (Lond). 2012; 9(1): 88
3. Sambunjak D, Nickerson JW, Poklepovic T, Johnson TM, Imai P, Tugwell P, et al. Flossing for the management of periodontal diseases and dental caries in adults. Cochrane database Syst Rev. 2011; (12): CD008829.
4. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease: a summary of current work. Lab Invest. 1976; 34(3): 235–49.
5. Sima C, Glogauer M. Diabetes mellitus and periodontal diseases. Curr Diab Rep. 2013; 13(3): 445–52.
6. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri - implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. 2018; 45 Suppl 20: S1 – S8.
7. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. Aust Dent J. 2009; 54 Suppl 1: S11-26. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01140.x. PMID: 19737262.
8. Andriankaja OM, Sreenivasa S, Dunford R, DeNardin E. Association between metabolic syndrome and periodontal disease. Aust Dent J. 2010; 55(3): 252–9.
9. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. Oral Microbiol Immunol. 2008; 23(3): 196–205.
10. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontol 2000. 1997; 14: 9–11.
11. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. J Immunol. 1998; 160(1):403-9. PMID: 9551997.
12. Franch-Chillida F, Nibali L, Madden I, Donos N, Brett P. Association between interleukin-6 polymorphisms and periodontitis in Indian non-smokers. J Clin Periodontol. 2010; 37(2): 137–44.
13. Mealey BL, Oates TW. American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. J Periodontol. 2006; 77(8): 1289-303. doi: 10.1902/jop.2006.050459. PMID: 16881798

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver.

14. Almeida BB, Ferreira ACR, Queiroz APG, Dornelas GN, Coelho MMST. Condições periodontais em portadores de diabetes mellitus atendidos no centro de referencia sul fluminense de diabetes e hipertensão de vassouras - RJ. J Periodontol Braz. 2014; 24(04): 14–23.
15. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. Diabetes Care. 1993; 16(1): 329–34.
16. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease : a two-way relationship. Br Dent J. 2014; 217(8):433-7.
17. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes - 2019. Diabetes Care. 2019; 42 (1): S13–28.
18. Kebede TG, Pink C, Rathmann W, Kowall B, Völzke H, Petersmann A, et al. Does periodontitis affect diabetes incidence and haemoglobin A1c change? An 11-year follow-up study. Diabetes Metab. 2018; 44(3): 243-249.
19. International Diabetes Federation. IDF Diabetes atlas. 9 ed. Brussels: IDF; 2019. [acesso em 01 mar. 2020]. Disponível em: [https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/2019/IDF Atlas 9th Edition 2019.pdf](https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/2019/IDF%20Atlas%209th%20Edition%202019.pdf)
20. Brandão D, Silva A, Penteado L. Relação bidirecional entre a doença periodontal e a diabetes mellitus. Odontol Clínico-Cient. 2011; 10(2): 117–20.
21. Baeza M, Morales A, Cisterna C, Cavalla F, Jara G, Isamitt Y, et al. Effect of periodontal treatment in patients with periodontitis and diabetes: systematic review and meta-analysis. J Appl oral Sci Rev FOB. 2020; 28: 1–13.
22. Akazawa H. Periodontitis and Diabetes Mellitus. Int Heart J 2018; 59: 680-682.
23. Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. Diabetes Res Clin Pract. 2018; 137: 231–41.
24. Hodge PJ, Robertson D, Paterson K, Smith GL, Creanor S, Sherriff A. Periodontitis in non-smoking type 1 diabetic adults: a cross-sectional study. J Clin Periodontol. 2012; 39(1): 20-9.
25. Lappin DF, Robertson D, Hodge P, et al. The Influence of Glycated Hemoglobin on the Cross Susceptibility Between Type 1 Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. J Periodontol. 2015; 86(11): 1249–1259.

26. Meenawat A , Pun K , Srivastava V , Meenawat AS , Dolas RS G V. Periodontal disease and type I diabetes mellitus: Associations with glycemic control and complications. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(5): 597–600.
27. Verhulst MJL, Loos BG, Gerdes VEA, Teeuw WJ. Evaluating all potential oral complications of Diabetes Mellitus. *Front Endocrinol*. 2019; 10:1–49.
28. Bascones-Martinez A, Matesanz-Perez P, Escribano-Bermejo M, González-Moles MÁ, Bascones-Ilundain J, Meurman JH. Periodontal disease and diabetes-Review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011; 16(6): 722-9.
29. Monea A, Mezei T, Popsor S, Monea M. Oxidative Stress : A link between Diabetes Mellitus and periodontal disease. *Int J Endocrinol*. 2014; 2014: 1-4.
30. Chen M, Cai W, Zhao S, Shi L, Chen Y, Li X, et al. Oxidative stress - related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis : A systematic review and meta - analysis. *J Clin Periodontol*. 2019;46(6):608–622.
31. Vincent RR, Appukuttan D, Victor DJ, Balasundaram A. Oxidative stress in chronic periodontitis patients with type II diabetes mellitus. *Eur J Dent*. 2018; 12(2): 225-231..
32. Saintot M, Astre C, Pujol H, Gerber M. Tumor progression and oxidant-antioxidant status. *Carcinogenesis*. junho de 1996;17(6):1267–71.
33. Halliwell B. Oral inflammation and reactive species : a missed opportunity ? *Oral Dis*. 2000; 6(3): 136–137.
34. Sen CK. Oxygen toxicity and antioxidants: state of the art. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1995; 39(3): 177–96.
35. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000; 404(6779): 787–90.
36. Blasiak J, Arabski M, Krupa R, Wozniak K, Zadrozny M, Kasznicki J, et al. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutat Res*. 2004; 554(1–2): 297–304.
37. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. 1991; 40(4): 405–12.
38. Gillery P, Monboisse JC, Maquart FX, Borel JP. Does oxygen free radical increased formation explain long term complications of diabetes mellitus? *Med Hypotheses*. 1989; 29(1): 47–50.
39. Hunt JV, Smith CC, Wolff SP. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* 1990; 39(11): 1420–4.

40. Kesavulu MM, Giri R, Kameswara Rao B, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab.* 2000 Nov; 26(5): 387-92.
41. Wiernsperger NF. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab.* 2003; 29(6): 579–85.
42. Mooradian AD. Increased serum conjugated dienes in elderly diabetic patients. *J Am Geriatr Soc.* 1991; 39(6): 571–4.
43. Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Blaszczyk J, Pawlak W. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulin dependent diabetes with or without diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13(11): 2829–32.
44. Mapp PI, Grootveld MC, Blake DR. Hypoxia, oxidative stress and rheumatoid arthritis. *Br Med Bull.* 1995;51(2):419–36.
45. Macnee W, Rahman I. Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160(5 Pt 2): S58-65.
46. Elbim C, Pillet S, Prevost MH, Preira A, Girard PM, Rogine N, et al. Redox and activation status of monocytes from human immunodeficiency virus-infected patients: relationship with viral load. *J Virol.* 1999;73(6): 4561–6.
47. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(7): 558–65.
48. Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. *J Periodontol.* 2000; 71(8): 1375–84.
49. Teng Y-TA. The role of acquired immunity and periodontal disease progression. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003; 14(4): 237–52.
50. Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, et al. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2005; 40(5): 378–84.
51. Patil VS, Patil VP, Gokhale N, Acharya A, Kangokar P. Chronic Periodontitis in Type 2 Diabetes Mellitus : Oxidative Stress as a Common Factor in Periodontal Tissue Injury. 2016; 10(4): 12–6.
52. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res.* 2010; 89(11): 1241-6.

53. Masi S, Orlandi M, Parkar M, et al. Mitochondrial oxidative stress, endothelial function and metabolic control in patients with type II diabetes and periodontitis: A randomised controlled clinical trial. *Int J Cardiol.* 2018; 271: 263–268.
54. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Front Physiol.* 2017; 8: 1-13.
55. Zúñiga-González GM, Batista-González CM, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Zamora-Perez AL, Muñoz-Magallanes T, et al. Micronuclei in diabetes: Folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2007; 634(1–2): 126–34.
56. Surralls J, Xamena N, Creus A, Marcos R. The suitability of the micronucleus assay in human lymphocytes as a new biomarker of excision repair. *Mutat Res.* 1995; 342(1-2): 43-59.
57. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2007; 2(5): 1084–104.
58. Martínez-Pérez LM, Cerda-Flores RM, Gallegos-Cabriaes EC, Dávila-Rodríguez MI, Ibarra-Costilla E, Cortés-Gutiérrez EI. Frequency of micronuclei in Mexicans with type 2 diabetes mellitus. *Prague Med Rep.* 2007;108(3):248–55.
59. Shettigar SKG, Shailaja C, Kulkarni RK. Elevated micronuclei frequency in type 2 diabetes with high glycosylated hemoglobin. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012; 95(2): 246–50.
60. Müllner E, Brath H, Nersesyan A, Nitz M, Petschnig A, Wallner M, et al. Nuclear anomalies in exfoliated buccal cells in healthy and diabetic individuals and the impact of a dietary intervention. *Mutagenesis.* 2014; 29(1): 1-6.
61. Karaman A, Aydın H, Gec B, Arda C. DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015; 782: 30-5.
62. Salimi M, Broumand B, Mozdarani H. Association of elevated frequency of micronuclei in peripheral blood lymphocytes of type 2 diabetes patients with nephropathy complications. *Mutagenesis.* 2016; 31(6): 627-633.
63. Silva B, Rovaris DL, Bonotto RM, Brasil J, Meyer F, Grohe RE, et al. The influence on DNA damage of glycaemic parameters, oral antidiabetic drugs and polymorphisms of genes involved in the DNA repair system. *Mutagenesis.* 2013; 28(5): 525–30.
64. Grindel A, Brath H, Nersesyan A, Knasmueller S, wagner K. Association of Genomic Instability with HbA1c levels and Medication in Diabetic Patients. *Sci Rep.* 2017; 7: 41985.

65. Ojeda JEQ, Aguilar-Medina M, Olimón-Andalón V, Jau RAG, Ham AA, Quintana VO, et al. Increased micronuclei frequency in oral and lingual epithelium of treated Diabetes Mellitus Patients. *BioMed Res Int*. 2018; 2018(1): 1-8.
66. Bastos-Aires D, Azevedo Á, De Lurdes Pereira M, Pérez-Mongiovi D, Teixeira A. Preliminary study of micronuclei levels in oral exfoliated cells from patients with periodontitis. *J Dent Sci*. 2013; 8(2): 200–204.
67. Agostini FD, Calcagno E, Micale RT, La S, Flora S De, Cingano L. International Journal of Hygiene and Cytogenetic analysis of gingival epithelial cells , as related to smoking habits and occurrence of periodontal disease. *Int J Hyg Environ Health*. 2013; 216(1): 71–5.
68. Brandão Pde T, Gomes-Filho IS, Cruz SS, Passos-Soares Jde S, Trindade SC, Souza Lda C, et al. Can periodontal infection induce genotoxic effects? *Acta Odontol Scand*. 2015; 73(3): 219-25.
69. Zamora-Perez AL, Ortiz-García YM, Lazalde-Ramos BP, Guerrero-Velázquez C, Gómez-Meda BC, Ramírez-Aguilar MA, et al. Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 2015; 50(1): 28–36.
70. Corbi SC, Bastos AS, Orrico SR, Secolin R, Dos Santos RA, Takahashi CS et al. Elevated micronucleus frequency in patients with type 2 diabetes, dyslipidemia and periodontitis. *Mutagenesis*. 2014; 29(6): 433-9.
71. Rathod SR, Raj A, Jadhav P, Sarda T. Assessment of cytogenic damage in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus subjects through micronucleus test. *Saudi J of Oral Sciences*. 2016; 3: 75–80.
72. Grindel A, Guggenberger B, Eichberger L, Pöppelmeyer C, Gschaidner M, Tosevska A, et al. Oxidative Stress, DNA Damage and DNA Repair in Female Patients with Diabetes Mellitus Type 2. *PLoS One*. 2016; 11(9): 1–17.
73. Donmez-altuntas H, Sahin F, Bayram F, Bitgen N, Mert M, Guclu K, et al. Evaluation of chromosomal damage , cytostasis , cytotoxicity , oxidative DNA damage and their association with body-mass index in obese subjects. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2014; 771: 30–6.
74. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. julho de 2007; 78(7 Suppl): 1387–99.
75. American Diabetes Association. 6. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019; 42 (Suppl. 1): S61–70.
76. Arboleda S, Vargas M, Losada S, Pinto A. Review of obesity and periodontitis: an epidemiological view. *Br Dent J*. 2019; 227(3): 235–9.

77. Fenech M, Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res.* 1985; 147(1–2): 29–36.
78. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res.* 2000; 455(1-2): 81-95.