

Universidade Federal de Minas Gerais

Faculdade de Odontologia

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA COMO
COADJUVANTE AO TRATAMENTO PERIODONTAL
NÃO-CIRÚRGICO SOBRE O QUADRO
PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM
PACIENTES PORTADORES DE *DIABETES
MELLITUS* TIPO 2**

Flávia Isabela Barbosa

Belo Horizonte - Minas Gerais

2014

Flávia Isabela Barbosa

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA COMO
COADJUVANTE AO TRATAMENTO PERIODONTAL
NÃO-CIRÚRGICO SOBRE O QUADRO
PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM
PACIENTES PORTADORES DE *DIABETES
MELLITUS* TIPO 2**

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Odontologia, nível Doutorado, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais

Orientador: Allyson Nogueira Moreira

Co-Orientadora: Milena Maria Moreira
Guimarães

Área de concentração: Clínicas
Odontológicas

Linha de Pesquisa: Epidemiologia e controle
das doenças bucais

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte - Minas Gerais

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

B238e
2014
MP

Barbosa, Flávia Isabela.
Efeito da terapia fotodinâmica como coadjuvante ao tratamento periodontal não-cirúrgico sobre o quadro periodontal e controle metabólico em pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2. / Flávia Isabela Barbosa. – 2014.

119 f. : il.

Orientador: Allyson Nogueira Moreira

Co-Orientador: Milena Maria Moreira Guimarães

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

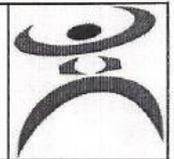
1. Doença periodontal. 2. Citocinas. 3. Diabetes mellitus. 4. Fotoquimioterapia. 5. Reação em cadeia da polimerase. I. Moreira, Allyson Nogueira. II. Guimarães, Milena Maria Moreira. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

BLACK D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

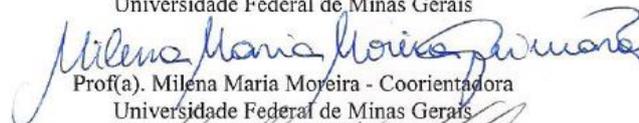
EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA COMO COADJUVANTE AO TRATAMENTO PERIODONTAL NÃO-CIRÚRGICO SOBRE O QUADRO PERIODONTAL E CONTROLE METABÓLICO EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2

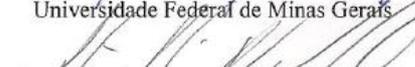
FLAVIA ISABELA BARBOSA

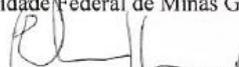
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Doutor em ODONTOLOGIA, área de concentração CLÍNICA ODONTOLÓGICA.

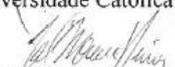
Aprovada em 30 de outubro de 2014, pela banca constituída pelos membros:

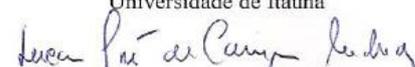

Prof(a). Allyson Nogueira Moreira - Orientador
Universidade Federal de Minas Gerais


Prof(a). Milena Maria Moreira - Coorientadora
Universidade Federal de Minas Gerais


Prof(a). Antonio Paulino Ribeiro Sobrinho
Universidade Federal de Minas Gerais


Prof(a). Elton Gonçalves Zenóbio
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais


Prof(a). Gil Moreira Júnior
Universidade de Itaúna


Prof(a). Lucas José de Campos Machado
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 30 de outubro de 2014.


Secretaria do Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Faculdade de Odontologia da UFMG

Confere com o original
31/10/2014

[...] Da mesma forma que eu, muitas noites, me debrucei sobre o teu berço e verti sobre teu pequenino corpo adormecido as minhas mais indefesas lágrimas de amor, e pedi a todas as divindades que cravassem na minha carne as farpas feitas para a tua. E porque vivemos tanto tempo juntos e tanto tempo separados, e o que o convívio criou nunca a ausência pode destruir [...] E sendo que reconheço nos teus pés os pés do menino que eu fui um dia, em frente ao mar; e na aspereza de tuas plantas as grandes pedras que grimpei e os altos troncos que subi; em tuas palmas as queimaduras do infinito que procurei como um louco tocar [...].

VINÍCIUS DE MORAES

Dedico este trabalho aos meus pais, Ana e Matozinho, pelo amor, cuidado, sonhos e apoio incondicional. Viver todo o carinho que vocês me dão é o que me tranquiliza nos dias difíceis, me dando o descanso e a certeza de que todas as suas orações são atendidas. Vocês são meus pés nas caminhadas e mãos no trabalho... Não tenho como expressar o amor, admiração e respeito que tenho por vocês... Só posso agradecer por tudo, esperando que saibam o quanto AMO VOCÊS!

À minha sobrinha Júlia e minha cunhada Eliane, pelas quais agradeço ao meu irmão, o melhor amigo que tenho na vida: Fabrício. O amor, cuidado e alegrias que me concedem a cada dia, mesmo que distantes, transformam minha vida e a tornam mais leve e abençoada...

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Allyson Nogueira Moreira pela oportunidade, ensinamentos, confiança e apoio. A atenção dispensada, esforço e dedicação a este trabalho foram essenciais, bem como o incentivo à minha formação como pesquisadora.

À minha co-orientadora, professora Milena Maria Moreira Guimarães, que me recebeu e acompanhou de forma tão doce e generosa, despertando sempre novas visões. Agradeço pela disponibilidade, paciência e pelo crescimento científico proporcionado.

À professora Cláudia Silami de Magalhães que, sempre tão solícita, foi grande colaboradora em todo o doutorado. Obrigada pelo acolhimento, aprendizado e confiança.

À Universidade de Itaúna, na pessoa de seu Magnífico Reitor, Doutor Faíçal David Freire Chequer, pelo incentivo e apoio incondicional.

Aos grandes amigos da Universidade de Itaúna, os quais foram presentes durante estes anos, seja ajudando, incentivando, esclarecendo dúvidas, tranquilizando, e sendo o melhor: AMIGOS! Desta forma, fica registrado o meu agradecimento à Ana Cristina Pestana, Andréia Dornas, Cláudia Toscano, Charles Anacleto, Débora Amaral, Haendel Busatti, José Cláudio Amorim, Juliana Barros, Juliana Becattini, Karen Chequer, Marcos Carvalho, Regina Coeli, Rodrigo Albuquerque, Sérgio Drummond e Sônia Lara Mendes.

Aos meus alunos e ex-alunos das faculdades de Odontologia e Medicina da Universidade de Itaúna, que me apoiaram e foram compreensivos durante este período. Agradeço especialmente ao Gabriel Ponte, Ana Regina Reis, Sabrina Moraes, Guilherme Augusto, Amanda Silva, Wanderson Almeida e Rafael Bahia, que me auxiliaram no atendimento aos pacientes da pesquisa, tornando-se amigos não só pela ajuda concedida, mas por compartilharmos um pouco da vida.

Aos funcionários da faculdade de Odontologia da Universidade de Itaúna, fundamentais na realização deste trabalho. Obrigada pela atenção, carinho e disponibilidade, principalmente nos atendimentos aos sábados, recessos e férias... Vocês tornaram meus dias bem mais leves! Obrigada a todos, especialmente à Alávia, Ana Paula, Corália, Filomena, Jaqueline, José Antônio, Natalina, Nazaré, Rosilene e Valmir, que participaram diretamente destes momentos.

Aos grandes e eternos amigos que sempre me apoiaram: Assísia Bertola, Geiziane Moraes, Guilherme Lima, Renato Magno, Ricardo Mundim e Vaneska Moraes. Obrigada pelo carinho, atenção e presença, mesmo à distância. Vocês são muito especiais!

A toda a equipe do Laboratório Carlos Chagas de Itaúna/MG pelo acolhimento aos pacientes da pesquisa e pela competência e seriedade nas análises que, sempre respaldadas, promoveram segurança aos resultados.

À professora Raquel Conceição Ferreira pela disponibilidade e cordialidade de sempre e, especialmente pela análise estatística de parte deste trabalho.

À professora Leda Quércia Vieira, que gentilmente me acolheu em seu laboratório para a realização das análises necessárias.

A toda minha família, vovó Rosa, tias e tios, primas e primos pelo apoio e compreensão, principalmente nos momentos em que me ausentei do convívio.

À Professora Maria Cássia Ferreira de Aguiar, coordenadora do programa de pós-graduação em Odontologia da UFMG.

Agradeço ainda a cada mão que me foi estendida e contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho e meu crescimento científico. Estas pessoas tão generosas demonstram que ainda existe compromisso com o progresso da ciência...

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro concedido (Processo: APQ-00813-11).

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, que conduziu meus passos durante estes quatro anos, me guardando e me fortalecendo todos os dias, que foram mais leves pela Sua presença.

Aos amigos com os quais fui presenteada durante a execução e análise da parte laboratorial deste trabalho:

Professor Ricardo Reis Oliveira, que de forma tão generosa doou seu tempo para me ensinar e acompanhar, obrigada por tudo! A oportunidade de convivência e sua competência foram extremamente valiosas, me fazendo admirá-lo como mestre e amigo!

Professora Kamilla Faria Maciel, pelos ensinamentos, auxílio e acompanhamento realizados com tamanha capacidade. A sua atenção e carinho foram um cuidado para mim nos momentos mais difíceis. Nosso convívio revelou tanta afinidade e sei que ganhei uma grande amiga, a quem devoto grande respeito, admiração e gratidão!

Professora Luciana Carla Neves Brito, que além de amiga e incentivadora me auxiliou de forma tão carinhosa e gentil. Agradeço pela disponibilidade, competentes análises e por compartilhar seu conhecimento, o que me fez admirá-la ainda mais.

A todos os pacientes avaliados e, especialmente, aos participantes desta pesquisa. Meu maior agradecimento é feito a vocês, pela disponibilidade e boa vontade em colaborar.

O tempo é o maior tesouro de que um homem pode dispor; embora inconsumível, o tempo é o nosso melhor alimento; sem medida que o conheça, o tempo é contudo nosso bem de maior grandeza: não tem começo, não tem fim; é um pomo exótico que não pode ser repartido, podendo entretanto prover igualmente a todo mundo. (...) Rico só é o homem que aprendeu, piedoso e humilde, a conviver com o tempo, aproximando-se dele com ternura, não contrariando suas disposições, não se rebelando contra seu curso, não irritando sua corrente, estando atento para o seu fluxo, brindando-o antes com sabedoria para receber dele os favores e não a sua ira; o equilíbrio da vida depende essencialmente deste bem supremo, e quem souber com acerto a quantidade de vagar, ou a de espera, que se deve pôr nas coisas, não corre nunca o risco, ao buscar por elas (...)

RADUAN NASSAR

RESUMO

RESUMO

O estudo teve como objetivo avaliar o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) como coadjuvante ao tratamento periodontal não-cirúrgico (TPNC) sobre o quadro periodontal e controle metabólico em pacientes portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 com periodontite crônica (moderada/grave). Foram incluídos 12 pacientes diabéticos divididos em dois grupos aleatórios de tratamento: 6 pacientes receberam TPNC associada à aPDT (G1) e 6 pacientes receberam a TPNC (G2). O estudo constou de cinco momentos, T0, T1, T2, T3 e T4 respectivamente, preparo do paciente, tratamento, 30, 90, 180 dias. Em todos os períodos, exceto T0, foi realizada avaliação dos parâmetros clínicos periodontais e dosagem de frutossamina, sendo realizada ainda, em T1 e T2, a coleta de fluido crevicular gengival para exame de PCR (reação de polimerase em cadeia) em tempo real de citocinas e marcador da resposta inflamatória e, em T1, T3 e T4 as dosagens de hemoglobina glicada (HbA1c). A amostra foi composta por 8 pacientes do sexo feminino e 4 do sexo masculino, sendo 5 pacientes do sexo feminino no grupo teste e 3 no controle, 1 paciente do sexo masculino no grupo teste e 3 no controle. A idade média foi de 52,17 anos e o tempo médio de diabetes foi de 9,58 anos. Em relação à medicação utilizada, 67% dos pacientes faziam de hipoglicemiante oral, 8,3% de insulina e 24,7% associavam estas medicações. Os grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando analisados os parâmetros clínicos e metabólicos iniciais. Foi utilizado o teste de Mann Whitney para comparação entre os grupos e o teste de Wilcoxon para avaliar a evolução dentro de cada grupo nos períodos de avaliação. O índice de placa não sofreu variações significativas dentro de cada grupo, mas em T2 (30 dias) foi demonstrado que o grupo teste apresentava este índice significativamente menor que o grupo controle ($p = 0,02$). Em relação ao sangramento à sondagem, ambos os grupos demonstraram redução significativa entre T1 e T2 ($p = 0,046$ e $p = 0,04$, G1 e G2 respectivamente), não havendo diferença entre os grupos. Em relação à profundidade à sondagem e nível de inserção clínica, os grupos não apresentaram diferenças entre si, mas houve redução das mesmas, que foram mantidas em todos os períodos de avaliação quando comparadas a T1. Em relação à hemoglobina glicada e frutossamina, não houve diferença significativa entre os grupos ou dentro dos mesmos em nenhum momento. A análise por PCR em tempo real dos níveis de expressão do mRNA

demonstrou não haver diferença significativa na expressão TNF- α , IL-1 β , MCP-1 e TGF- β antes e após o tratamento periodontal porém, no período de 30 dias após o tratamento observou-se uma redução significativa na expressão gênica da citocina IFN- γ e marcador celular CD4⁺CD28⁺ e aumento na expressão de IL-10. Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que: a) a TPNC, associada ou não à aPDT melhora o quadro periodontal em pacientes diabéticos de forma semelhante; b) a TPNC, associada ou não à aPDT não interferem no controle glicêmico de diabéticos e c) o tratamento periodontal não cirúrgico parece influenciar a expressão de citocinas inflamatórias no fluido crevicular gengival de pacientes diabéticos.

Palavras-chave: Citocinas. Diabetes Mellitus. Doença Periodontal. Terapia Fotodinâmica. Reação de Polimerase em Cadeia.

ABSTRACT

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effect of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) as an adjunct to non-surgical periodontal treatment (NSPT) on the periodontal status and metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis (moderate / severe). Twelve diabetic patients were included in two randomized treatment groups: 6 patients received NSPT associated with aPDT (G1) and 6 patients received NSPT (G2). The study consisted of five moments, T0, T1, T2, T3 and T4 respectively, patient preparation, treatment, 30, 90, 180 days. In all periods, except T0, reviewed periodontal clinical parameters and serum fructosamine was performed, being held in T1 and T2 collecting gingival crevicular fluid for examination real time PCR (polymerase chain reaction) cytokine and marker of the inflammatory response, and T1, T3 and T4 assay of glycated hemoglobin (HbA1c). The sample consisted of 8 females and 4 males, 5 females in the test and 3 in control group, 1 male patient in the test group and 3 in the control. The average age was 52.17 years and mean duration of diabetes was 9.58 years. Regarding medication use, 67% of patients used oral hypoglycemic agents, insulin 8.3% and 24.7% associated these medications. The groups showed no statistically significant differences when analyzed baseline clinical and metabolic parameters. The Mann Whitney test used for comparison between groups and the Wilcoxon test was used to assess progress within each group in the evaluation periods. The plaque index did not change within each group, but in T2 (30 days) showed that the test group had significantly lower this index the control group ($p = 0.02$). Regarding the bleeding on probing, both groups showed a significant reduction between T1 and T2 ($p = 0.046$ and $p = 0.04$, G1 and G2 respectively), with no difference between groups. In relation to probing depth and clinical attachment level, the groups did not differ from each other, but there was a reduction of the same, which were maintained in all evaluation periods compared to T1. In relation to glycated hemoglobin and fructosamine, there were no significant differences between groups or within the same in any moment. Analysis by real time PCR of mRNA expression levels showed no significant difference in the expression of TNF- α , IL-1 β , MCP-1 and TGF- β before and after periodontal treatment but, within 30 days after treatment there was a significant decrease in the IFN- γ cytokine and cell marker CD4⁺CD28⁺ gene expression and increased expression of IL-10. Within the limitations of this study, we can conclude

that: a) TPNC, associated or not with aPDT, improves similarly periodontal status in diabetic patients; b) TPNC, associated or not with aPDT not interfere with glycemic control in diabetic and c) TPNC appears to influence the expression of inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid of diabetic patients.

Key words: Cytokines. Diabetes Mellitus. Periodontal disease. Photodynamic Therapy. Polimerase Chain Reaction.

**LISTAS (ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, TABELAS E
ABREVIATURAS**

LISTA DE ILUSTRAÇÕES (FIGURAS E QUADROS)

FIGURA 1 - Diagrama de Jablonsky.....	41
FIGURA 2 - Diagrama do estudo.....	61
QUADRO 1 - Citocinas, tipo de resposta e atividade na doença periodontal.....	38
QUADRO 2 - Significado dos escores do índice de placa.....	53
QUADRO 3 - Distribuição dos grupos em relação ao tratamento.....	55
QUADRO 4 - Primers utilizados.	59

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Variação da Hemoglobina Glicada (HbA1C) entre os grupos, por período de avaliação.....	69
GRÁFICO 2 - Variação da frutossamina entre os grupos, por período de avaliação.....	69
GRÁFICO 3 - Variações nos níveis de TNF- α de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	70
GRÁFICO 4 - Variações nos níveis de IL-1 β de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	70
GRÁFICO 5 - Variações nos níveis de MCP-1 de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	71
GRÁFICO 6 - Variações nos níveis de TGF- β de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	71
GRÁFICO 7 - Variações nos níveis de INF- γ de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	72
GRÁFICO 8 - Variações nos níveis de CD4 ⁺ CD28 ⁺ de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	72
GRÁFICO 9 - Variações nos níveis de IL-10 de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.....	73

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Caracterização demográfica e médica dos grupos.....	63
TABELA 2 - Avaliação da homogeneidade entre os grupos pelos parâmetros periodontais, metabólicos e tempo de diabetes.....	64
TABELA 3 - Medidas descritivas e comparativas dos índices periodontais por modalidade de tratamento e período de avaliação.....	65
TABELA 4 - Medidas descritivas e comparativas dos parâmetros clínicos por modalidade de tratamento e período de avaliação.....	66
TABELA 5 - Medidas descritivas e comparativas da Hemoglobina Glicada (HbA1C) por modalidade de tratamento	67
TABELA 6 - Medidas descritivas e comparativas da Hemoglobina Glicada (HbA1C) por período de avaliação.....	67
TABELA 7 - Medidas descritivas e comparativas da Frutosamina por modalidade de tratamento.....	68
TABELA 8 - Medidas descritivas e comparativas da Frutosamina por período de avaliação.....	68

LISTA ABREVIATURAS

aPDT - Terapia fotodinâmica antimicrobiana
CD4 - Agrupamento de diferenciação CD4
CD8 - Agrupamento de diferenciação CD8
CD28 - Agrupamento de diferenciação CD28
cDNA - DNA complementar
FCG – Fluido crevicular gengival
G1 - Grupo teste
G2 - Grupo controle
GAPDH - Desidrogenase de Gliceraldeído 3-fosfato
HbA1c - Hemoglobina glicada
IL-1 β - Interleucina-1 β
IL-4 - Interleucina 4
IL-6 - Interleucina 6
IL-8 - Interleucina 8
IL-10 - Interleucina 10
IL-17 - Interleucina 17
IFN- γ - Interferon γ
IP - Índice de placa
MCP-1 - Proteína quimiotática para monócitos 1
MMP - Matriz de metaloproteinase
mRNA - RNA mensageiro
NIC - Nível de inserção clínico
NK - Células *natural killer*
PCR - Reação de Polimerase em Cadeia
PDT - Terapia fotodinâmica
PGE₂ - Prostaglandina E₂
PS - Profundidade à sondagem
RAR - Raspagem e alisamento radicular
SSG - Sangramento à sondagem gengival
TGF β - Fator de crescimento transformador β
Th1 - Células T *helper* 1

Th2 - Células T *helper* 2

Th17 - Células T *helper* 17

Treg - Células T regulatórias

TNF- α - Fator de necrose tumoral α

TPNC – Tratamento periodontal não cirúrgico

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	24
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	27
2.1 Influência do <i>diabetes mellitus</i> na doença periodontal.....	30
2.2 Influência da doença periodontal no controle metabólico do <i>diabetes mellitus</i>	31
2.3 Citocinas e marcadores da resposta inflamatória na periodontite.....	33
2.4 Terapia fotodinâmica.....	39
3 OBJETIVOS.....	43
3.1 Objetivo geral.....	44
3.2 Objetivos específicos.....	44
4 HIPÓTESES.....	45
5 METODOLOGIA.....	47
5.1 Delineamento do estudo.....	48
5.2 Aspectos éticos.....	48
5.3 Seleção da amostra.....	48
5.4 Avaliação clínica periodontal.....	51
5.4.1 Profundidade à sondagem.....	52
5.4.2 Nível de inserção clínico.....	52
5.4.3 Índice de placa.....	52
5.4.4 Sangramento gengival à sondagem.....	53
5.5 Avaliação do controle metabólico do <i>diabetes mellitus</i>	53
5.6 Terapêutica periodontal e acompanhamento clínico.....	54
5.7 Análise da resposta inflamatória.....	56
5.7.1 Obtenção das amostras.....	56
5.7.2 Extração e quantificação de RNA.....	57
5.7.3 Obtenção do cDNA.....	58
5.7.4 Detecção e quantificação das citocinas/marcador.....	58

5.8 Análise dos dados.....	60
5.9 Diagrama do estudo.....	60
6 RESULTADOS.....	62
7 DISCUSSÃO.....	74
8 CONCLUSÕES.....	86
REFERÊNCIAS.....	88
ANEXOS E APÊNDICES.....	99
ANEXO A - Aprovação do COEP.....	100
APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	101
APÊNDICE B - Ficha clínica.....	102
APÊNDICE C - Avaliação periodontal.....	103
APÊNDICE D - Avaliação metabólica.....	104
ARTIGO SUBMETIDO.....	105

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A periodontite tem como determinante o biofilme bacteriano, no entanto, doenças sistêmicas podem atuar sobre o seu curso interferindo na capacidade dos tecidos periodontais de reagir à agressão ou modulando essa ação, e aumentando o risco de desenvolvimento e a gravidade da doença já instalada (SOUTHERLAND; TAYLOR; OFFENBACHER, 2005).

Dentre os fatores sistêmicos de risco à periodontite, o *diabetes mellitus* ocupa um quadro de destaque e determinou muitas pesquisas para que o seu mecanismo de ação sobre o periodonto, e vice-versa, fosse elucidado (CORBELLA *et al.*, 2013).

O *diabetes* é um distúrbio endócrino-metabólico caracterizado pelo aumento dos níveis de glicose sanguíneos causado pela deficiência parcial ou total na secreção de insulina pelas células β pancreáticas e/ou por resistência à sua ação. Essa alteração metabólica conduz o indivíduo a um quadro de hiperglicemia crônica que acarreta danos a diversos órgãos e anormalidades sistêmicas incluindo alterações vasculares, disfunção de neutrófilos e metabolismo anormal do colágeno (MEALEY; OCAMPO, 2007).

Infecções têm sido associadas a alterações da resposta endócrino-metabólica do hospedeiro com piora do controle glicêmico e, neste contexto, a periodontite parece exercer influência sobre o controle metabólico do *diabetes*. O *diabetes*, por sua vez, parece influenciar a gravidade da periodontite, demonstrando a existência de uma relação bidirecional entre estas patologias (MEALEY; OATES, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2013).

A presença de microrganismos periodontopatógenos, por sua vez, está relacionada à resposta imunológica, pois a presença ou ausência dos mesmos pode afetar a liberação de mediadores inflamatórios associados à degradação tecidual. Alguns mediadores inflamatórios como, fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucinas 4, 6 e 10 (IL-4, IL-6 e IL-10), prostaglandina E₂ (PGE₂), matriz metalo-proteinasas (MMP), interferon γ (IFN- γ), fator de crescimento transformador β (TGF- β), e quimiocinas se apresentam em quantidade alterada na doença periodontal (O'CONNEL *et al.*, 2008; ESCOBAR, 2009; LAGES, 2011; PRESHAW; TAYLOR, 2011; PRESHAW, 2012).

Estudos avaliaram o impacto da terapia periodontal não cirúrgica, com raspagem e alisamento radicular (RAR), sobre o controle glicêmico de diabéticos e evidências da melhora metabólica destes pacientes foram demonstradas (KIRAN *et al.* 2005; FARIA-ALMEIDA; NAVARRO; BASCONES, 2006; NAVARRO-SANCHEZ; FARIA-ALMEIDA; BASCONES-MARTINEZ, 2007; KOROMANTZOS *et al.*, 2011), bem como diminuição da inflamação sistêmica com redução de mediadores da resposta inflamatória (CORREA *et al.*, 2008; O'CONNELL *et al.*, 2008; CORREA *et al.*, 2010).

Apesar da RAR ser considerada o padrão ouro para o tratamento da periodontite, muitas vezes não é capaz de eliminar completamente a infecção periodontal e o processo inflamatório associado, principalmente em indivíduos com comprometimento sistêmico e propensão a casos mais graves de periodontite, como diabéticos. Diante desta limitação, a utilização de associações a tratamentos alternativos tem sido proposta sendo o uso de antibioticoterapia, local ou sistêmica, a mais difundida (JONES *et al.*, 2007; O'CONNELL *et al.*, 2008; AL-ZAHRANI *et al.*, 2009; ENGBRETSON; HEY-HADAVI, 2011; GILOWSKI *et al.*, 2012; BOTERO *et al.*, 2013; MUNENAGA *et al.*, 2013; MACEDO *et al.*, 2014).

A antibioticoterapia sistêmica, apesar de demonstrar alguns benefícios na associação à RAR, apresenta como restrições a resistência bacteriana e efeitos colaterais. Com o objetivo de minimizar estes efeitos novas opções tem sido testadas para potencializar o efeito da terapia periodontal, como o caso da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) que, objetiva a inativação de microrganismos associados às condições patológicas do periodonto (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Esta terapia consiste na irradiação por um laser de baixa intensidade sobre áreas infectadas que, previamente coradas por um fotossensibilizador específico e na presença de oxigênio, inicia reações fotoquímicas que irão levar à formação de espécies reativas de oxigênio tóxicas ao microrganismo podendo, por diferentes mecanismos, diminuir sua ação patológica ou até mesmo eliminá-lo (AMORIM, 2007).

Estudos têm demonstrado que a terapia fotodinâmica antimicrobiana possui a capacidade de reduzir microrganismos associados à periodontite e inativar citocinas, o que impacta positivamente o tratamento periodontal (CHAN; LAI, 2003; SOUSA, 2007; O'CONNELL *et al.*, 2008; BRAHAM *et al.*, 2009).

Esta pesquisa objetiva avaliar a efetividade da terapia periodontal não cirúrgica, através da RAR associada à aPDT em pacientes diabéticos, avaliando sua influência sobre o controle metabólico do *diabetes* em indivíduos com periodontite moderada e/ou grave, assim como estudar as alterações na expressão de citocinas inflamatórias relacionadas à periodontite no diabético.

A condição atual do conhecimento sobre a relação da influência da condição periodontal no controle metabólico do *diabetes* não apresenta, até o momento, um consenso ou possui critérios específicos para uma abordagem propedêutica, necessitando maiores informações para formulação de condutas que contribuam para a melhoria das respostas ao tratamento realizados em diabéticos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

As doenças periodontais são caracterizadas por uma reação inflamatória nos tecidos de suporte dos dentes em decorrência de uma infecção provocada por um grupo específico de bactérias organizadas num biofilme que, caso não seja tratada evolui para um quadro de periodontite, resultando em destruição óssea e posterior perda dental (GIANNOBILE, 2008).

Geralmente, o diagnóstico clínico de periodontite se baseia na extensão das medidas de bolsas periodontais, perda de inserção clínica e no padrão e extensão da perda óssea alveolar, podendo estas medidas ser avaliadas em combinação ou não (PAGE; EKE, 2007).

A periodontite é uma doença complexa, pois sua expressão envolve a interação do biofilme bacteriano com a resposta imunoinflamatória do hospedeiro, podendo ser modificada por fatores ambientais e/ou sistêmicos (KORNMAN, 2008).

Dois grandes grupos foram definidos na atual classificação das doenças periodontais, a periodontite crônica e a agressiva, sendo as duas formas distintas, principalmente, através da quantidade de placa e padrão de destruição periodontal, idade e status médico (ARMITAGE, 2004).

Tem sido demonstrado que a periodontite crônica é a forma mais comum da doença, sendo que afeta a maioria dos pacientes de forma moderada (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2005).

A periodontite crônica pode se manifestar com diferentes padrões de extensão, localizada ou generalizada sendo que, ambas as formas apresentam a mesma etiologia variando somente em relação ao percentual de sítios ou dentes afetados, sendo considerada localizada quando encontrado um percentual menor ou igual a 30% e generalizada quando maior que 30% (ARMITAGE, 2010).

Ao longo dos anos, doenças sistêmicas têm sido associadas à periodontite, aumentando o risco de desenvolvimento e a gravidade da doença periodontal. Dentre os quadros sistêmicos associados à doença periodontal, o *diabetes mellitus* figura com destaque (SOUTHERLAND; TAYLOR; OFFENBACHER, 2005).

O *diabetes* compreende um grupo de doenças metabólicas caracterizado por uma hiperglicemia crônica resultante de alterações na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013).

O Ministério da Saúde (2012) reportou uma prevalência de 11,7 % de diabéticos no Brasil no ano de 2012 e estima-se que, atualmente, 382 milhões de pessoas no mundo tem *diabetes* (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2013).

Dois grandes grupos tem destaque na classificação do *diabetes mellitus*: tipo 1 e tipo 2. No *diabetes* do tipo 1 ocorre uma destruição primária das células β pancreáticas, geralmente associada a processos autoimunes relacionados à predisposição genética e fatores ambientais. No *diabetes* do tipo 2 ocorre uma combinação de resistência à ação da insulina e uma resposta compensatória inadequada. Esta última categoria apresenta maior prevalência e, um grau de hiperglicemia crônica assintomático pode estar presente por um longo período antes da detecção do *diabetes*, e podendo causar alterações patológicas e funcionais em diversos órgãos na ausência de sintomas clínicos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013).

Sintomas da hiperglicemia grave incluem poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e comprometimento visual. Complicações agudas e ameaçadoras são a cetoacidose diabética e o estado hiperglicêmico hiperosmolar. As complicações crônicas do *diabetes* podem ser microvasculares (retinopatia, nefropatia, neuropatia) e macrovasculares (doença cardiovascular aterosclerótica, doença vascular periférica e doença cérebro-vascular). A hipertensão arterial, anormalidades do metabolismo das lipoproteínas e a periodontite estão frequentemente presentes em diabéticos (MEALEY; OCAMPO, 2007).

A hiperglicemia crônica promove ainda alterações na resposta imunoinflamatória que contribui para uma susceptibilidade aumentada a infecções que, nas suas formas agudas, têm sido associada à piora do controle glicêmico (MEALEY; OCAMPO, 2007; CASQUEIRO; CASQUEIRO; ALVES, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2013).

Assim, cada vez mais o *diabetes* e periodontite estão relacionados, demandando pesquisas no sentido elucidar o mecanismo de ação do *diabetes* sobre o periodonto e da condição periodontal sobre o *diabetes* (ALMEIDA *et al.*, 2013).

2.1 Influência do *diabetes mellitus* na periodontite

Estudos relatam que diabéticos apresentam uma probabilidade duas a três vezes maior de ocorrência da periodontite, principalmente devido às mudanças vasculares, falta de oxigenação, renovação metabólica inadequada, disfunção de leucócitos e outras alterações imunológicas e metabólicas no tecido conjuntivo (MEALEY; OCAMPO, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2013).

A maior causa das alterações vasculares é a prolongada exposição à hiperglicemia crônica que promove alterações na membrana basal dos vasos sanguíneos levando à obstrução dos capilares que determina uma microangiopatia diabética nos tecidos bucais. Esta alteração está relacionada com a duração do *diabetes* e seu controle metabólico (ANDERSEN *et al.*, 2007).

Mealey e Rose (2008) relataram que no *diabetes* existe maior deficiência da resposta imune, sendo observada a diminuição da quimiotaxia, aderência e fagocitose em macrófagos e polimorfonucleares, considerados causa potencial de infecção bacteriana.

O *diabetes* também está relacionado a uma diminuição na síntese do colágeno, depressão no crescimento e na proliferação de fibroblastos, redução na síntese de matriz óssea, aumento no nível da colagenase gengival e degradação do colágeno recém formado (MEALEY; OATES, 2006).

A base bioquímica para tais alterações é a formação de produtos de glicosilação avançada (AGEs) resultantes da alta concentração de glicose no sangue, levando a danos indiretos a células endoteliais, epiteliais, linfócitos e monócitos. Assim, o aumento da colagenase gengival e diminuição da síntese de colágeno são observados nos quadros hiperglicêmicos, bem como a diminuição da função neutrofílica, desregulação na produção de osteoblastos, aumento da apoptose de osteoblastos e fibroblastos periodontais, alteração na membrana basal dos vasos que resulta em microangiopatia gengival e alteração na secreção de citocinas como IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TGF- β , e TNF- α (ANDERSEN *et al.*, 2007; KING, 2008; PRESHAW; TAYLOR, 2011).

Iniciado este processo, um ciclo catabólico de expressão e secreção de citocinas é estabelecido pela inflamação, o que leva à expressão de matriz

metaloproteinases (MMPs), destruição de tecido conectivo e reabsorção do osso alveolar (MEALEY; OCAMPO, 2007).

Segundo Southerland *et al.* (2006) a possível ligação entre *diabetes* e gravidade da doença periodontal pode ser consequência de uma resposta inflamatória monocítica exagerada induzida por acúmulo de AGEs resultando na secreção exagerada de mediadores locais e sistêmicos que conduzem a quadros graves de periodontite.

Acredita-se que o controle metabólico e duração do *diabetes* também tenham influência sobre o desenvolvimento e gravidade da periodontite, o que está associado com a exposição prolongada à hiperglicemia e a presença de complicações microvasculares (MEALEY; OATES, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2013).

Pacientes com *diabetes* apresentam maior prevalência, com formas mais graves e rapidamente progressivas de periodontite que indivíduos não diabéticos, apresentando maior risco para a perda dental (AL-SHAMMARI *et al.*, 2005; KAUR *et al.*, 2009).

Patel, Kumar e Moss (2013), utilizando dados do “National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2004”, demonstraram uma prevalência de 28% de edentulismo em pacientes diabéticos, sendo que os mesmos apresentam duas vezes mais chances de perda dental comparados a pacientes saudáveis.

Estas evidências suportam o conceito de periodontite como uma complicação do *diabetes*, sendo a periodontite reconhecida por Løe (1993) como a sexta complicação mais frequente do *diabetes*.

2.2 Influência da periodontite no controle do *diabetes mellitus*

O *diabetes* aumenta o risco e gravidade para a periodontite que, por sua vez, associa-se ao risco para o desenvolvimento de *diabetes*, bem como pode complicar seu controle metabólico (PRESHAW *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2013).

A periodontite tem sido associada ao mau controle glicêmico, sugerindo que infecções periodontais possam desencadear um estado de hiperglicemia crônica (PRESHAW *et al.*, 2012).

O grau de inflamação periodontal parece influenciar o controle metabólico do *diabetes* através de alterações nos níveis de HbA1c, o que já foi demonstrado em uma resposta dose-dependente (NESSE *et al.*, 2009).

Microrganismos envolvidos na periodontite têm a capacidade de estimular fibroblastos e macrófagos presentes no tecido resultando num aumento de citocinas e outros mediadores da resposta inflamatória que produzem alterações no metabolismo de glicose e lipídeos (O'CONNELL *et al.*, 2008). Desta forma, o controle glicêmico dos pacientes pode ser afetado, visto que esta alteração imunoinflamatória pode contribuir para a resistência à insulina e intolerância à glicose (ALMEIDA *et al.*, 2013).

Pacientes diabéticos, muitas vezes, podem se apresentar descompensados metabolicamente pela presença da periodontite e sugere-se que o tratamento desta condição poderia auxiliar o controle glicêmico (MEALEY; OATES, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2013).

Alguns estudos têm examinado o impacto do tratamento periodontal sobre o controle glicêmico e evidências da melhora do mesmo após tratamento periodontal foram demonstradas (KIRAN *et al.* 2005; PROMSUDTHI *et al.* 2005; FARIA-ALMEIDA; NAVARRO; BASCONES, 2006; NAVARRO-SANCHEZ; FARIA-ALMEIDA; BASCONES-MARTINEZ, 2007; SANTOS *et al.*, 2009; KATAGIRI *et al.*, 2012).

Santos *et al.* (2009) avaliaram os efeitos clínicos e metabólicos da raspagem e alisamento radicular em pacientes diabéticos, comparando a raspagem realizada de forma parcial, ou seja, com intervalos máximos de 21 dias ou na modalidade de boca completa, realizada em duas sessões com intervalo máximo de 24 horas. Observaram que os parâmetros clínicos periodontais melhoraram em ambos os grupos, mas não houve melhora significativa no controle metabólico dos mesmos. Concluíram que as duas modalidades de tratamento são efetivas para o tratamento periodontal em diabéticos, porém não influenciam o controle glicêmico.

A associação de antibioticoterapia ao tratamento periodontal não cirúrgico parece trazer benefícios pela redução adicional de patógenos periodontais, inibição da secreção de citocinas inflamatórias e efeito inibitório sobre a glicosilação não enzimática em diabéticos. Os antibióticos mais utilizados são tetraciclina,

administradas de forma sistêmica (JONES *et al.*, 2007; O'CONNELL *et al.*, 2008; AL-ZAHARANI *et al.*, 2009; MUNENAGA *et al.*, 2013; MACEDO *et al.*, 2014).

Meta-análises avaliaram o potencial efeito do tratamento periodontal na redução dos níveis glicêmicos de pacientes diabéticos. Os resultados sugeriram que o tratamento periodontal poderia levar a uma redução significativa na hemoglobina glicada, mas este indicativo deve ser visto com cautela, visto que os estudos apresentam diferenças metodológicas e estudos com amostras maiores e eliminação de variáveis interferentes são necessários para determinar realmente se o tratamento periodontal beneficia de forma significativa o controle glicêmico e para definir o tipo de tratamento periodontal ideal (JANKET *et al.*, 2005; DARRÉ *et al.*, 2008; TEEUW; GERDES; LOOS, 2010).

Recente ensaio clínico multicêntrico avaliou o efeito da terapia periodontal isolada com raspagem e alisamento radicular (RAR) num grupo de 257 diabéticos, comparado a 257 diabéticos sem tratamento periodontal. Os dados mostraram que a terapia isolada não é capaz de provocar mudanças significativas nos níveis glicêmicos, concluindo que o uso de tratamento periodontal não-cirúrgico padrão, constando somente de RAR, não é válido com a finalidade de reduzir os níveis de HbA1c (ENGBRETSON *et al.*, 2013).

Atualmente, o reconhecimento desta relação de dupla via entre o *diabetes* e periodontite tem sido confirmado pela comunidade médica, sendo que a Federação Internacional de Diabetes, após amplo debate junto a profissionais de odontologia, produziu um manual específico para cuidados orais em diabéticos, recomendando que o mesmo deve ser adotado como um guia pelos profissionais e estudantes de ambas as áreas (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2009).

2.3 Citocinas e marcadores da resposta inflamatória na periodontite

Como já visto, um modelo de dupla via, relacionando a influência da periodontite no *diabetes* e vice-versa, foi estabelecido. As alterações imunológicas influenciadas por ambas as condições têm importante papel na progressão destas doenças (PRESHAW, 2012).

Na periodontite, diversos mediadores relacionados à resposta inflamatória se mostram alterados como resultado direto da exposição contínua aos produtos

bacterianos presentes na bolsa periodontal. No *diabetes*, a produção e ligação de AGEs a macrófagos os tornam mais responsivos a agentes bacterianos, determinando um aumento significativo na produção de citocinas e outros mediadores pró-inflamatórios (SOUTHERLAND; TAYLOR; OFFENBACHER, 2005; MEALEY; ROSE, 2008; MACEDO, 2009).

O aumento destes mediadores da resposta inflamatória, como as citocinas, produzem alterações no metabolismo da glicose e lipídeos, o que pode contribuir para a resistência à insulina, intolerância à glicose e maior destruição do periodonto (MEALEY; OCAMPO, 2007; O'CONNELL *et al.*, 2008).

A resposta imune tem sido amplamente estudada na doença periodontal, pois a expressão de citocinas e outros marcadores da resposta inflamatória constituem importantes elementos diagnósticos da progressão da doença (GRAVES, 2008; ANDRADE, 2010; PRESHAW; TAYLOR, 2011).

As respostas imunes inata e adaptativa são responsáveis por combater as bactérias que invadem os tecidos periodontais e modelos tem demonstrado que estas respostas participam da formação de lesões periodontais (GRAVES; OATES; GARLET, 2011).

Na doença periodontal, componentes bacterianos periodontopatogênicos, tais como lipopolissacarídeos, são potentes estimuladores da secreção celular de uma variedade de citocinas e fatores de crescimento, através da resposta mediada por receptores que, uma vez ativados por produtos bacterianos, levam à produção de citocinas inflamatórias na resposta inata, contribuindo para a destruição tecidual (SOUTHERLAND *et al.*, 2006). Desta forma, diversos mediadores da resposta inflamatória são estimulados pela presença de componentes microbianos nos tecidos periodontais (O'CONNEL *et al.*, 2008; PRESHAW; TAYLOR, 2011; PRESHAW, 2012).

Citocinas são proteínas solúveis secretadas por células da imunidade natural e adquirida e são responsáveis pela manutenção de uma complexa rede de comunicação entre células, desenvolvendo numerosas atividades biológicas (ABBAS, LICHTMAN; PILLAI, 2008). Elas atuam através da ligação a receptores específicos em células alvo, que iniciam cascatas de sinalização intracelular pela alteração na expressão gênica (PRESHAW; TAYLOR, 2011).

Citocinas apresentam um importante papel na inflamação, tem secreção breve e auto-limitada, influenciam a secreção de outras citocinas e apresentam efeitos pleiotrópicos sobre um grande número de tipos de células (ABBAS, LICHTMAN; PILLAI, 2008).

O balanço entre citocinas determina a destruição tecidual ou manutenção da homeostase e, a progressão da doença, se dá pela combinação de vários fatores, incluindo a presença de periodontopatógenos, altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, MMPs, PGE₂ e baixos níveis de interleucina 10 (IL-10), fator de crescimento transformador β (TGF- β) e inibidores de metaloproteinases (MMPs) (KAYAL, 2013).

Com função essencial na resposta imune inata e inflamação, a IL-1 β se destaca na periodontite, regula a imunidade adaptativa e estimula o *turn over* do tecido conjuntivo, sendo sintetizada por monócitos, macrófagos, neutrófilos, queratinócitos, células epiteliais e fibroblastos (ABBAS, LICHTMAN; PILLAI, 2008; PRESHAW; TAYLOR, 2011).

Na periodontite os níveis da IL-1 β apresentam-se aumentados e estão relacionados com a expressão de MMPs, responsáveis pela degradação de matriz extra-celular, sendo consideradas potentes indutoras de reabsorção óssea (GRAVES, 2008; ANDRADE, 2010; GARLET *et al.*, 2012).

Na reabsorção óssea, esta citocina tem sido associada ao estímulo à diferenciação e ativação de osteoclastos e aumento na síntese de colagenase (LUZ *et al.*, 2014).

Engbretson *et al.* (2004) correlacionaram altos níveis no fluido crevicular gengival (FCG) desta citocina com a HbA1c maior que 8%, firmando a hipótese de que a hiperglicemia contribui para uma resposta inflamatória exacerbada, sugerindo que este mecanismo possa explicar a associação entre o pobre controle glicêmico e destruição periodontal.

O TNF- α é secretado principalmente por linfócitos T, macrófagos e células B, além de fibroblastos, osteoclastos, neutrófilos e células epiteliais (PRESHAW; TAYLOR, 2011). Constitui o principal mediador da resposta inflamatória aguda a microrganismos gram negativos (ABBAS, LICHTMAN; PILLAI, 2008).

Assim como a IL-1 β , seus níveis se encontram aumentados na doença periodontal, estabelecendo uma relação de intensa inflamação periodontal e perda

óssea alveolar, explicado pela desregulação de adesão de moléculas a leucócitos e células epiteliais que, por sua vez, estimulam a secreção de quimiocinas e outros mediadores da resposta inflamatória (GARLET *et al.*, 2005; GRAVES, 2008; GARLET *et al.*, 2012).

Segundo Graves, Oates e Garlet (2011), estudos indicam uma relação de causa e efeito entre TNF- α e destruição óssea periodontal justamente pela regulação da adesão de moléculas a células, produção de outras citocinas, indução de migração celular, aumento na expressão de MMPs e ligante do receptor de ativação do fator nuclear *kappa* B (RANKL), ambos relacionados com a reabsorção óssea.

Foi demonstrado que em diabéticos com pobre controle metabólico, os níveis de TNF- α se encontravam aumentados em biópsias de sítios com periodontite crônica, sugerindo que o *diabetes* influencia a expressão desta citocina em sítios com periodontite (VENZA *et al.*, 2010).

O IFN- γ atua na imunidade inata e adaptativa, sendo produzido por células T *helper* 1 (Th1) e *natural killer* (NK) (ABBAS, LICHTMAN; PILLAI, 2008). Dependendo da natureza da resposta imunológica, seus níveis na inflamação podem estar aumentados ou diminuídos (GARLET *et al.*, 2012).

O IFN- γ atua na resposta inflamatória aguda e crônica da doença periodontal pela atração de macrófagos e aumento de fagócitos locais, estímulo à formação de osteoclastos e indução da liberação de citocinas (GEMMELL; SEYMOUR, 2004; ESCOBAR, 2009; DUTZAN *et al.*, 2009), sendo relacionado com a reabsorção óssea (GRAVES; OATES; GARLET, 2011).

Um aumento nas concentrações de IFN- γ tem sido demonstrado em pacientes portadores de periodontite (TSAI *et al.*, 2007; DUTZAN *et al.*, 2009), sendo seus níveis diminuídos após o tratamento (TSAI *et al.*, 2007). Também foi encontrado aumento nos níveis de IFN- γ em pacientes diabéticos portadores de periodontite comparados a não diabéticos com periodontite (RIBEIRO *et al.*, 2011).

Citocinas quimiotáticas (quimiocinas) também desempenham um grande papel na evolução da doença periodontal, podendo atrair monócitos e também neutrófilos, de acordo com a família a qual pertencem (SOUTO, 2014).

As quimiocinas são responsáveis pela polarização da resposta imune, recrutamento e distribuição de subconjuntos de leucócitos nos tecidos, regulando a

migração e proliferação celular e, também, pela migração, ativação e diferenciação de células dendríticas. Dentre as quimiocinas, a proteína quimiotática para monócitos (MCP-1) ocupa destaque na patogênese da doença periodontal (PRESHAW; TAYLOR, 2011; REPEKE *et al.*, 2011; SOUTO, 2014).

A MCP-1 é produzida por células endoteliais e fagócitos gengivais em resposta a estímulos por lipopolissacarídeos bacterianos e citocinas, tais como: TNF- α e IL-1 β . Através da quimiotaxia de monócitos, aumenta a gravidade da inflamação nos tecidos periodontais, sendo mediada por TNF- α e IL-1 β que estimulam sua expressão no ligamento periodontal (PRADEEP; DAISY; HADGE, 2009). Desta forma, seus níveis estão diretamente relacionados com a inflamação destes tecidos (GRAVES, OATES; GARLET, 2011).

Na periodontite, MCP-1 está relacionada com a atração de precursores de osteoclastos e remodelação óssea inflamatória (GARLET *et al.*, 2012). Seu alto potencial quimiotático para monócitos na periodontite foi demonstrado pela sua atividade aumentada no FCG conforme a gravidade da doença (KAYAL, 2013).

Níveis elevados de MCP-1 foram encontrados em diabéticos do tipo 2 e relacionam a mesma à resistência à insulina (ODEGAARD *et al.*, 2007) e também foi demonstrado que níveis aumentados de MCP-1 nos tecidos gengivais de ratos diabéticos sugerem uma indução da inflamação periodontal pelo *diabetes* (SAKALHOĞLU *et al.*, 2008).

Segundo Nóbrega (2008) MCP-1 está presente na periodontite crônica sinalizando ser responsável, juntamente com outros mediadores, pela manutenção local de leucócitos nesta infecção, expressa clinicamente na perda de inserção e profundidade à sondagem gengival.

De forma contrária aos efeitos pró-inflamatórios desempenhados pelas citocinas já destacadas, outras proteínas com a mesma característica atuam de forma a controlar a inflamação, como é o caso da IL-10 e TGF- β . A IL-10 pode estar associada à inibição de IL-1 β , enquanto o TGF- β pode induzir a produção de IL-10, atuando na supressão da inflamação por inibição de polimorfonucleares, macrófagos, células B e, também, no reparo, regeneração e angiogênese (ANDRADE, 2010; PRESHAW; TAYLOR, 2011).

A IL-10 tem papel protetor na destruição tecidual por estimular a osteoprotegerina (OPG) que, por sua vez inibe a reabsorção óssea (GARLET *et al.*,

2012). Promove ainda a supressão da resposta imune inata num importante papel imunorregulador, visto que interfere na secreção de IFN- γ e IL-17 (SOBOKU *et al.*, 2014).

Esta citocina é produzida por células T *helper* 2 (Th2) e T regulatórias (Treg) e, frequentemente, é encontrada com níveis aumentados na periodontite (GOUTOUDI; DIZA; ARVANITIDOU, 2004; GARLET *et al.*, 2012). Porém, um estudo realizado em ratos, demonstrou redução nos níveis de IL-10 em tecidos gengivais de ratos diabéticos, sugerindo que o *diabetes* pode inibir sua secreção (SOBOKU *et al.*, 2014).

O TGF- β é produzido por células Treg, monócitos e macrófagos, podendo atuar de forma imunossupressora pela inibição dos efeitos inflamatórios em células T Th1 e Th2, *natural killer* (NK), células B, polimorfonucleares, macrófagos, prevenção da maturação de células dendríticas e na regulação (*downregulation*) de TNF- α e IL-1 β (PRESHAW; TAYLOR, 2011; GARLET *et al.*, 2012).

TGF- β tem sido associado ao processo de cicatrização e, suas concentrações no FCG podem estar aumentadas na periodontite crônica, sugerindo um efeito modulador na resposta inflamatória e também a minimização da extensão da lesão relacionada à periodontite (ESCOBAR, 2009).

A principal atividade e tipo de resposta inflamatória relacionada às citocinas citadas anteriormente estão descritas no quadro 1.

QUADRO 1 – Citocinas, tipo de resposta e atividade na doença periodontal.

Citocina	Resposta	Atividade na doença periodontal
IL-1 β	Pró-Inflamatória	Degradação de matriz extra-celular; Reabsorção óssea.
TNF- α	Pró-Inflamatória	Estimula secreção de outras citocinas; Reabsorção óssea.
IFN- γ	Pró-Inflamatória	Estímulo à formação de osteoclastos e indução da liberação de citocinas; Reabsorção óssea.
MCP-1	Pró-Inflamatória	Atração de precursores de osteoclastos; Remodelação óssea inflamatória.
IL-10	Anti-inflamatória	Inibe reabsorção óssea; Papel imunoregulador.
TGF- β	Anti-inflamatória	Inibição de efeitos inflamatórios; Reparo, regeneração e angiogênese.

A resposta imune inata inicia o desenvolvimento da imunidade adaptativa através de linfócitos T e B. As células T CD4 podem se diferenciar em células T *helper* Th1, Th2, Th17 e Treg. Th1 e Th17 atuam como mediadoras nas respostas inflamatórias destrutivas e Th2 e Treg são funcionalmente protetoras (DUARTE *et al.*, 2012). As células Th1 secretam IFN- γ e promovem uma imunidade celular mediada pela ativação de macrófagos. Células NK, células citotóxicas T CD8⁺, e Th2 secretam interleucinas 4 e 10 (IL-4 e IL-10). Células Th17 secretam interleucina 17 (IL-17) (com atividades pró-inflamatórias em comum com IL-1 β , TNF- α e interleucina 22 (IL-22), enquanto Treg são responsáveis pela secreção de IL-10 e TGF- β , que atuam de forma a controlar a inflamação (GEMMELL; SEYMOUR, 2004; TSIAGBE; FINE, 2012).

Com relação à expressão na superfície celular de moléculas de co-receptoras de CD4 e CD8 as células T maduras são divididas em dois sub-grupos, os linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, que são responsáveis por respostas de linfócitos T na ligação com o complexo maior de histocompatibilidade (BRITO *et al.*, 2012).

A ativação das células T requer o reconhecimento do antígeno específico por receptor de células T (TCR) e um sinal a partir de moléculas co-estimuladoras, sendo a molécula CD28 expressa constitutivamente na superfície de mais de 95% dos linfócitos T CD4⁺ (BRITO *et al.*, 2014).

Linfócitos T CD4 representam um dos principais componentes da resposta adaptativa e estão presentes na periodontite (HERNÁNDEZ *et al.*, 2012). Apesar do efeito das células T CD8 não serem claros nesta patologia, é sugerido um potencial papel regulador de células T CD4⁺ e T CD8⁺ na periodontite (GRAVES, 2008; TSIAGBE; FINE, 2012; EBERSOLE *et al.*, 2013).

Assim, o estudo da expressão gênica das proteínas e marcadores envolvidos na formação e destruição tecidual durante a resposta imunológica a agentes bacterianos sobre o periodonto, é fundamental para o entendimento da relação entre a resposta do hospedeiro e progressão da doença, sendo potenciais marcadores de diagnóstico (ANDRADE, 2010; PRESHAW; TAYLOR, 2011).

2.4 Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica (PDT) moderna teve início em 1970 sendo utilizada para o tratamento de neoplasias e, a partir da década de 1990, os estudos de sua ação sobre bactérias foram intensificados (AMORIM, 2007).

A PDT contemporânea, designada terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), é uma alternativa promissora na periodontia, pois não promove resistência bacteriana como na antibioticoterapia, mostrando efeitos destrutivos sobre microrganismos de forma segura e eficaz (KARLSSON; LÖFGREN; JANSSON, 2008).

Em contraste com a PDT para tratamento de neoplasias, onde o corante é injetado na corrente sanguínea acumulando-se no tumor, a aPDT para eliminação de microrganismos é feita por aplicação local (PERUSSI, 2007).

A eficiência da inativação é considerada melhor em bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas, que são significativamente resistentes a muitos fotossensibilizadores, isto justificado pela diferença estrutural na parede das células, o que pode ser superado pela associação de polímeros catiônicos ou por coadministração de peptídeos permeabilizantes aos fotossensibilizadores (PERUSSI, 2007).

Na ação sobre bactérias as mesmas sofrem efeitos citotóxicos, que vão depender da absorção do corante fotossensibilizador. Bactérias gram-positivas absorvem fotossensibilizadores aniônicos e catiônicos, porém as gram-negativas, devido à diferença na membrana, que é dupla, só absorvem fotossensibilizadores catiônicos ou aniônicos com polipeptídeos catiônicos (O'RIORDAN; AKILOV; HASSAN, 2005).

Na aplicação da aPDT, tanto a dosagem do fotossensibilizador, o comprimento de onda e a densidade de energia são fatores determinantes para sua eficácia (CHAN; LAI, 2003).

O comprimento de onda da radiação da aPDT deve levar em conta a capacidade de penetração da luz nos tecidos e o máximo de absorção do fotossensibilizador que, clinicamente exige luz com características da região espectral do vermelho e infravermelho (650 a 800 nm). Comprimentos de onda superiores não possuem energia suficiente para ativar os fotossensibilizadores (SILVA, 2007).

A aPDT requer a presença de três fatores que interagem concomitantemente: corante (agente fotossensibilizador), uma fonte de luz e o oxigênio, compondo um complexo sistema que não atua isoladamente (AMORIM, 2007). No momento em que a luz é absorvida pelo corante, reações químicas produzem oxigênio singlete e reativo, que são capazes de promover alterações celulares, podendo resultar em alterações de membrana celular com quebra de DNA e alterações de permeabilidade, necrose e apoptose (ALMEIDA *et al.*, 2006).

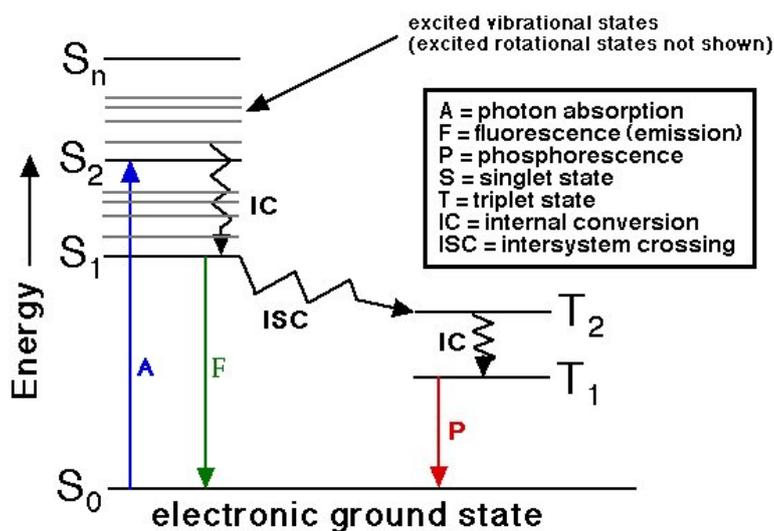
Na aPDT a reação não ocorre por aumento de temperatura e requer interação da luz, fotossensibilizador e substrato, o que resulta em reações fotoquímicas (AMORIM, 2007).

O tempo pré-irradiação também influencia a aPDT. Este tempo consiste no intervalo entre a aplicação do agente fotossensibilizador e a irradiação da luz, o qual é necessário para que o corante possa interagir com os microrganismos e, estima-se que o mesmo seja de um a dez minutos (SOUSA, 2007).

Na presença do oxigênio das células, o fotossensibilizador ativado reagirá com moléculas vizinhas por transferência de elétrons ou hidrogênio, levando à produção de radicais livres (reação do tipo I) ou por transferência de energia ao oxigênio (reação do tipo II), levando à produção de oxigênio singlete. Os dois tipos de reação podem levar à morte celular e à destruição do tecido doente (PERUSSI, 2007).

Segundo Yin *et al.* (2013) o efeito fotodinâmico inicia-se quando há a absorção da luz pelo corante, que sai de seu estado de repouso, assumindo um estado mais energético (singlete). Neste nível de energia há instabilidade e a molécula tem curto período de vida retornando a um nível de energia mais baixo ou ao seu estado de repouso (reação do tipo I). O excesso de energia pode ser transferido ao substrato por meio de fluorescência onde o fotossensibilizador emite energia em forma de fótons podendo ainda atingir um nível intermediário, denominado estado tripleto, que se situa entre o estado de repouso e singlete e onde a um maior tempo de vida (reação do tipo II). O diagrama de Jablonski explica a ocorrência das mesmas (FIGURA 1).

FIGURA 1 – Diagrama de Jablonski



Fonte: <http://www.chemistry.adelaide.edu.au/external/soc-rel/content/jablonsk.htm>

Este tipo de tratamento é particularmente interessante na inativação de microrganismos e suas respostas imuno-inflamatórias, pois no momento em que há falha de um tratamento convencional, normalmente introduz-se uma terapia antibiótica e, atualmente, é preocupante o número de bactérias resistentes aos antibióticos tradicionais. Na aPDT é improvável que ocorra esta resistência, visto que os microrganismos alvo podem sofrer diferentes efeitos deletérios (YAMADA JR.; HAYEK; RIBEIRO, 2004; PERUSSI, 2007).

Na odontologia, o tratamento convencional com laser de alta intensidade, apesar de seus efeitos destrutivos sobre microrganismos, gera aumento de temperatura intrapulpal e do ligamento periodontal, podendo ocasionar reabsorção óssea e necrose pulpar. A terapia fotodinâmica, realizada com lasers de baixa intensidade, minimiza estes quadros e pode produzir morbidade das bactérias orais sem a ocorrência estas alterações patológicas (YAMADA JR.; HAYEK; RIBEIRO, 2004).

Apesar de resultados extremamente variados nos benefícios à terapia periodontal (KARLSSON; LÖFGREN; JANSSON, 2008; AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2011), estudos demonstram a capacidade da terapia fotodinâmica para reduzir microrganismos e inativar citocinas associadas à destruição periodontal, bem como melhorias nos parâmetros clínicos periodontais (SOUSA, 2007; BRAHAM *et al.*, 2009; CHONDROS *et al.*, 2009; GE *et al.*, 2011; CAMPOS *et al.*, 2013).

Neste sentido, buscam-se soluções para melhorias do tratamento periodontal convencional em pacientes diabéticos, com o objetivo de se obter benefício adicional para o quadro periodontal e sistêmico.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) como coadjuvante à terapia periodontal não-cirúrgica (TPNC) sobre a condição periodontal e controle metabólico em pacientes portadores de *diabetes mellitus* tipo 2.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da TPNC sobre o controle metabólico e condição periodontal nos diabéticos;
- Avaliar o efeito da TPNC associada à aPDT sobre o controle metabólico e a condição periodontal nos diabéticos;
- Comparar os efeitos da TPNC, associada ou não à aPDT, sobre o controle metabólico e a condição periodontal nos diabéticos.
- Caracterizar os níveis de expressão das citocinas TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- γ , IL-10, TGF- β e marcador para linfócitos T CD4⁺ (CD28), em pacientes diabéticos, antes e após o tratamento periodontal.

4 HIPÓTESES

- A terapia fotodinâmica (aPDT) tem efeito coadjuvante ao tratamento periodontal no quadro periodontal de pacientes diabéticos tipo 2;
- O tratamento periodontal em pacientes diabéticos influencia o controle metabólico do *diabetes*;
- A tratamento periodontal influencia os níveis de expressão das citocinas TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- γ , IL-10, TGF- β e do marcador para linfócitos T CD4⁺ (CD28) em pacientes portadores de *diabetes mellitus* tipo 2.

5 METODOLOGIA

5.1. Delineamento do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado controlado simples-cego, no qual foi avaliado o efeito da terapia fotodinâmica (aPDT) como coadjuvante ao tratamento periodontal não-cirúrgico (TPNC) sobre o quadro periodontal e controle metabólico em pacientes portadores de *diabetes mellitus* tipo 2.

O CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) foi utilizado como um guia e auxílio durante a realização do ensaio e seu relato (CONSORT, 2010).

5.2 Aspectos éticos

Este trabalho foi realizado de acordo com as normas e diretrizes da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que regulamenta a pesquisa com envolvimento de seres humanos, sendo previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Parecer nº 0645.0.203.000-10) (ANEXO A).

Os indivíduos selecionados receberam informações verbais e por escrito sobre o estudo e foram convidados a participar do mesmo. Aqueles que se dispuserem a participar leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A).

5.3 Seleção da amostra

A população alvo deste estudo foi composta por pacientes cadastrados no “Programa HiperDia” dos municípios de Itaúna e Itatiaiuçu e por voluntários que tiveram conhecimento da pesquisa.

Para a obtenção da amostra, foram avaliados 653 indivíduos no período de março de 2012 a abril 2013.

Foram incluídos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2, com idade de 35 a 65 anos, de ambos os sexos, sem distinção de raça e/ou classe social, em uso de

hipoglicemiantes orais e/ou insulina, apresentando dosagem de hemoglobina glicada (HbA1c) > 7% realizada pelo menos até 90 dias antes da seleção.

Os pacientes deveriam apresentar um quadro de periodontite crônica moderada e/ou grave. Para tanto, foi utilizado o critério proposto por Page e Eke (2007), que estabelece o diagnóstico de periodontite moderada com a presença de dois ou mais sítios (em dentes diferentes) com perda de inserção interproximal \geq 4mm ou profundidade à sondagem interproximal \geq 5mm em dentes diferentes e, para a periodontite grave, a perda de inserção \geq 6mm em dois ou mais sítios interproximais (em dentes diferentes) e um ou mais sítios com profundidade à sondagem \geq 5mm.

Todos os indivíduos deveriam possuir no mínimo 15 dentes, com exceção dos terceiros molares, os quais não foram componentes do estudo, visto a variabilidade anatômica e dificuldade de tratamento. Entre os dentes presentes mais de 30% apresentavam periodontite, caracterizando a doença como generalizada (ARMITAGE, 2010).

Foram excluídos:

- Pacientes que receberam tratamento periodontal nos últimos 6 meses;
- Pacientes com necessidade de antibioticoterapia profilática para realização do tratamento (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2010);
- Pacientes sob antibioticoterapia nos últimos três meses;
- Grávidas ou lactantes;
- Fumantes ou ex-fumantes a menos de 5 anos;
- Pacientes com outro quadro de doença sistêmica relacionada ao risco para doença periodontal;
- Pacientes com infecções maiores da cavidade bucal e/ou com necessidade de tratamento endodôntico, exodontias, e/ou outros tratamentos cirúrgicos odontológicos;
- Pacientes com condições interferentes no resultado da hemoglobina glicada (GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PADRONIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA – A1C, 2009):
 - Condições que promovem redução do valor real da HbA1c em função da diminuição do número de eritrócitos, dos níveis de hemoglobina e do hematócrito:

- Anemias hemolíticas de diferentes etiologias;
- Hemoglobinopatias;
- Comprometimento da medula óssea por radiação, toxinas, fibrose, tumores;
- Deficiência nutricionais de ácido fólico, vitaminas B6 e B12;
- Condições que promovem aumento do número de glóbulos vermelhos e/ou do valor do hematócrito;
- Hipertireoidismo;
- Queimaduras graves, com perda de líquido protéico;
- Leucemia;
- Mieloma múltiplo;
- Deficiência de eritropoietina secundária a comprometimento renal;
- Intoxicação por chumbo;
- Presença de grandes quantidades de vitamina C e E (pode inibir a glicação da hemoglobina).
- Condições que promovem aumento do valor real da HbA1c
 - Presença de hemoglobina carbamylada (hemoglobina quimicamente modificada e resultante da ligação da uréia à hemoglobina) ocorrendo em pacientes com insuficiência renal.
 - Deficiência nutricional de ferro pode provocar aumento significativo (>2%) nos níveis de A1C.
 - Presença de hemoglobina acetilada (hemoglobina quimicamente modificada e resultante da ligação do salicilato com a hemoglobina) ocorrendo em pacientes em uso de doses elevadas de ácido acetilsalicílico.
 - Condições que promovem aumento do número de glóbulos vermelhos e/ou do valor do hematócrito.
 - Hiperbilirrubinemia, alcoolismo crônico, hipertrigliceridemia e adição aos opióides (podem falsamente aumentar o resultado do teste).
- Pacientes com condições interferentes no resultado da frutossamina.
 - Condições que promovem redução do valor real da frutossamina:

- Desnutrição.
- Condições que podem interferir no resultado do exame:
 - Altos níveis de vitamina C;
 - Hiperlipidemia;
 - Hemólise;
 - Hipertireoidismo.
- Pacientes que, por qualquer razão, se recusaram a participar do estudo.

Após avaliação dos critérios apresentados na população alvo, uma amostra de 12 indivíduos diabéticos foi selecionada. Para a randomização, os indivíduos foram sorteados através de um programa de computador (Epi Info 6.04, Centers of Control Disease and Prevention, Atlanta, USA), sendo realizada uma randomização em três blocos de quatro indivíduos, ou seja, a cada quatro indivíduos selecionados para compor a amostra, um sorteio foi realizado, determinando em cada bloco de sorteio, a designação de dois indivíduos para cada grupo.

Todos os pacientes avaliados e, que apresentavam alguma necessidade de tratamento, foram encaminhados ao mesmo.

5.4 Avaliação clínica periodontal

Após a anamnese (APÊNDICE B), os participantes do estudo foram submetidos ao exame clínico inicial para avaliar o índice de placa, sangramento à sondagem gengival, profundidade à sondagem e nível de inserção clínico.

O conjunto de instrumental padronizado para exame incluiu: espelho bucal, pinça de algodão e sonda periodontal milimetrada modelo Williams (Hu-Friedy, Mgf. Co. Inc., Chicago, Il, USA), além de gaze e rolete de algodão. Os dados referentes ao exame clínico foram devidamente registrados na ficha clínica individual padronizada de avaliação periodontal (APÊNDICE C).

Anteriormente ao estudo, foi realizada a calibração para os exames clínicos. Oito pacientes portadores de periodontite crônica e que não faziam parte do estudo foram avaliados em relação à profundidade à sondagem e nível de inserção clínico, sendo realizadas pela examinadora (F.I.B.) duas avaliações destes parâmetros com intervalo de 48h. A calibração foi aceita para as medidas iniciais e 48h, sendo

similares em mais de 90% das medidas duplicadas, quando avaliadas pelo coeficiente de correlação intraclasse (ICC).

5.4.1 Profundidade à sondagem

A profundidade à sondagem é a distância da margem gengival ao fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal (nos casos de doença periodontal instalada). É um importante método para a verificação do estado periodontal, sendo considerada a presença de doença uma profundidade de sondagem maior que 3,0 mm.

Os dentes envolvidos no presente estudo foram sondados em suas faces vestibulares nos pontos méso-vestibular (MV), disto-vestibular (DV), centro-vestibular (CV), e faces linguais ou palatinas nos pontos méso-lingual (ML), centro-lingual (CL), disto-lingual(DL), sendo anotadas as maiores profundidades encontradas por mesial, distal, lingual e vestibular.

5.4.2 Nível de inserção clínico

A importância de se obter a medida do nível de inserção clínico é observar o grau de destruição periodontal. Esta medida obtida através da sondagem periodontal, compreendendo a distância da junção esmalte-cimento até o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal.

De maneira semelhante à profundidade à sondagem, o nível de inserção clínico foi avaliado com uma sonda periodontal nas faces vestibular e lingual ou palatina de todos os dentes, sendo registrados os maiores valores encontradas por mesial, distal, lingual e vestibular.

5.4.3 Índice de placa

A higiene bucal foi avaliada através do índice de placa visível de Ainamo e Bay (1975) sendo o registro realizado por dente, de forma dicotômica considerando-se a presença ou ausência de placa.

Para obtenção do estado de higiene, dividiu-se o número de dentes com placa pelo número de dentes examinados e, multiplicando-se o resultado por 100

obtemos a proporção dos dentes com placa. A interpretação do estado de higiene do paciente foi realizada com base no quadro 2.

QUADRO 2 – Significado dos escores do índice de placa

Porcentagem	Significado
0 - 16%	Ótimo estado de higiene bucal
17 - 33%	Bom estado de higiene bucal
34 - 66%	Mau estado de higiene bucal
67 - 100%	Péssimo estado de higiene bucal

5.4.4 Sangramento à sondagem gengival

O sangramento é um dos sinais clínicos iniciais da inflamação gengival e se deve à atrofia ou ulceração do epitélio interno do sulco gengival ou da bolsa periodontal e à presença de tecido de granulação na parede interna do sulco gengival.

A leitura clínica dos pontos sangrantes foi realizada no momento da medida da profundidade à sondagem, considerando-se 30 segundos após a inserção da sonda. Foi utilizado o índice de Ainamo e Bay (1975) modificado, que permite uma avaliação dos sítios que sangram e os que não sangram à leve sondagem, mostrando a presença de inflamação gengival de forma dicotômica.

Para obtenção do índice de sangramento, o cálculo foi realizado da mesma forma que o índice de placa.

5.5 Avaliação do controle metabólico do *diabetes mellitus*

Na anamnese foram colhidos dados sobre a história do *diabetes*, com especificação dos antidiabéticos utilizados, adesão ao tratamento farmacológico e não farmacológico e presença de condições sistêmicas que possam desencadear

aumento da atividade inflamatória não relacionada ao *diabetes* ou periodontite. Estes dados foram anotados em ficha individual padronizada (APÊNDICE B).

Neste estudo, o acompanhamento do controle metabólico do *diabetes* foi realizado através da dosagem sanguínea de hemoglobina glicada (HbA1c) e frutossamina, realizados por um único laboratório de análises clínicas. Os pacientes foram orientados a se dirigirem ao laboratório de referência, onde uma amostra de sangue total foi colhida e analisada, utilizando o método HPLC para HbA1c e colorimétrico para a frutossamina. Os resultados destes exames foram registrados em ficha padronizada (APÊNDICE D).

5.6 Terapêutica periodontal e acompanhamento clínico

Previamente ao tratamento foram realizados procedimentos para eliminação de sítios de retenção de placa e instruções de higiene bucal com o objetivo de facilitar as manobras do operador e a higiene bucal pelo paciente. As instruções de higiene bucal foram realizadas através da evidenciação de placa, seguida de instruções técnicas de escovação, escovação supervisionada e polimento coronário.

Estes procedimentos foram iniciados 30 dias antes do protocolo de tratamento (T0) e os pacientes foram acompanhados recebendo reforço das instruções de higiene bucal conforme necessidade, devendo apresentar ao final dos 30 dias um índice de placa de no máximo 33,3%.

Todos os pacientes foram submetidos à raspagem e alisamento radicular subgingival realizada em duas sessões com intervalo de 24 horas, sob anestesia de bloqueio da região, utilizando um aparelho de ultra-som odontológico (PROFI II CERAMIC, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e um jogo de curetas periodontais (Hu-Friedy, Mgf. Co. Inc., Chicago, IL, USA), constando de cureta McCall # 13/14, curetas Gracey # 1/2, 5/6, 7/8, 11/12, 13/14, realizados por um único operador, especialista em periodontia (F.I.B.).

Os pacientes foram divididos aleatoriamente em grupo teste (G1) e controle (G2). Os pacientes do grupo teste receberam como tratamento adjuvante a aPDT (QUADRO 3).

QUADRO 3 - Distribuição dos grupos em relação ao tratamento

Grupo	Modalidade de tratamento
Grupo Teste (G1) (n=6)	RAR + aPDT
Grupo Controle (G2) (n=6)	RAR

A aplicação da terapia fotodinâmica foi realizada previamente à raspagem seguindo o protocolo desenvolvido para este trabalho, baseado na literatura MACEDO, 2009; CAMPOS *et al.*, 2013) e recomendações do fabricante do fotossensibilizador e fonte de luz.

Inicialmente foi realizado o isolamento relativo da área a ser irradiada com roletes de algodão estéreis e colocação dos óculos de proteção no paciente, e procedeu-se à aplicação do agente fotossensibilizador azul de metileno (Chimiolux, Aptivalux, Belo Horizonte, MG, Brasil) no interior da bolsa periodontal (realizada do fundo do sulco/bolsa até a margem gengival, ao redor de todo o dente) com auxílio de uma seringa Luer descartável de 5 cc.

Após aguardar 5 minutos (tempo pré-irradiação para absorção do corante pelos microrganismos), foi realizada a remoção do excesso supragengival do fotossensibilizador com leve irrigação com soro fisiológico.

Em seguida, foi feita a colocação dos óculos de proteção para operador e a irradiação com laser de diodo de baixa intensidade por fora da bolsa periodontal por um tempo total de 2 minutos. Comprimento de onda 660nm, 40mW de potência,

emitindo no vermelho do espectro eletromagnético e densidade de energia total em torno de 100J/cm² (TwinFlex II, MM Optics, São Paulo, SP, Brasil).

A aplicação da terapia fotodinâmica no grupo teste foi realizada, em cada paciente, nos dentes que apresentavam bolsas maiores ou iguais a 4mm. Nestes dentes, foram irradiadas por 20 segundos por sítio as superfícies méso-vestibular (MV), disto-vestibular (DV), centro-vestibular (CV), méso-lingual (ML), centro-lingual (CL) e disto-lingual (DL). A ponta ativa foi colocada em 90⁰ em relação ao longo eixo da área a ser irradiada, sendo a mesma realizada de forma pontual nas superfícies citadas.

O mascaramento dos indivíduos em relação aos tratamentos foi realizado. Para tanto, a aplicação do laser foi simulada no grupo controle sem a aplicação do corante e a ativação do laser, mantendo-se os mesmos cuidados e tempos adotados para o grupo teste.

5.7 Avaliação da resposta inflamatória

No momento dos exames clínicos de T1 e T2 (0 e 30 dias após o tratamento) foram colhidas amostras de fluido crevicular gengival (FCG) das bolsas periodontais dos pacientes de ambos os grupos.

As amostras obtidas foram submetidas à análise por *Real Time* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real), um método baseado na análise de ácidos nucleicos, sensível e rápido para detecção e quantificação das citocinas.

Foram avaliadas a expressão da interleucina 1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina 10 (IL-10), interferon γ (IFN- γ), fator de crescimento transformador β (TGF- β), proteína quimioatática de monócitos (MCP-1) e do marcador para linfócitos T CD4⁺ (CD28).

5.7.1 Obtenção das amostras

As amostras do conteúdo das bolsas periodontais tiveram como critério de eleição os quatro dentes com as bolsas mais profundas. Anteriormente à coleta, a região dos dentes selecionados foi isolada com roletes de algodão estéreis e a placa

bacteriana supragengival foi removida com o uso de uma cureta periodontal (McCall # 13/14, Hu-Friedy, Mgf. Co. Inc., Chicago, IL, USA).

Para cada um dos dentes selecionados, quatro cones de papel absorvente estéreis Cell Pack #30 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) foram inseridos no sulco gengival, com o auxílio de uma pinça clínica estéril, nas superfícies mesial, distal, vestibular e lingual, sendo mantidos no local por 60 segundos. Os cones contaminados por sangramento local foram descartados.

Após sua retirada, os cones foram armazenados em microtubos, devidamente identificados, contendo 500 µL de solução de Krebs, e congelados no freezer a -70° até o momento da análise.

A coleta foi realizada no período anterior ao tratamento e 30 dias após (T1 e T2), visando estudar as alterações na expressão de citocinas inflamatórias relacionadas à periodontite em pacientes diabéticos.

Para padronizar os sítios, a extração do RNA de cada paciente foi realizada nas amostras do dente com maior profundidade de sondagem, localizado mais anteriormente. As demais amostras foram mantidas em estoque.

5.7.2 Extração e quantificação de RNA

Inicialmente, realizou-se o descongelamento dos microtubos e as amostras de cada sítio, por dente, foram transferidas, num pool de 4 amostras, para tubos falcon (individuais por dente), sendo centrifugados por 15 minutos a 4.000 x g a 4°C. Após este procedimento, os cones de papel absorvente foram removidos, mantendo-se somente a solução. A cada tubo foi adicionado 1.000 µL de Trizol e 300 µL de clorofórmio e, após homogeneizados e mantidos por 10 minutos em temperatura ambiente, foram novamente centrifugados por 15 minutos a 4.000 x g a 4°C. A fase clara (sobrenadante) obtida foi cuidadosamente transferida para um microtubo adicionando-se 250 µL de isopropanol. A mistura foi incubada em estufa BOD a 25°C por 15 minutos e centrifugada, posteriormente, por 10 minutos a 12.000 x g a 4°C, provocando a precipitação do RNA. O sobrenadante foi descartado e foram

adicionados 250µL de etanol a 75%. Após este passo, os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 10.000 x g a 4°C. Descartou-se o sobrenadante e, após aguardar 15 minutos para o escoamento de todo o líquido, foram adicionados 25µL de água de alta qualidade tratada com dietil-pirocarbonato (DEPC) (SIGMA® Chemical Co., Louis, MO, USA).

A solução contendo o RNA foi avaliada em espectrofotômetro (Nanodrop® /ND 1000. Wilmington-Delaware, USA) (comprimento de onda 260/280 DO) para sua quantificação pela fórmula [mRNA-mg/mL] = DO260 x diluição x 40. Após este passo ser realizado para cada amostra, as mesmas foram congeladas em freezer a -70°C.

5.7.3 Obtenção do cDNA

A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada através da transcrição reversa utilizando-se um *mix* contendo Desoxirribonucleotídeos Fosfatados (DNTPs), Oligo dT₁₅, Dithiothreitol (DTT), DEPC e tampão da enzima transcriptase reversa. Doze microlitros de *mix* e 1 µg de RNA de cada amostra foram adicionados a cada tubo. As amostras foram levadas ao termociclador *Thermo Hybaid* (PCR Express, UK) com as condições padrão para cDNA: 70°C por 5 minutos, 4°C por 5 minutos, pausa para adição de 3 µl da solução contendo a enzima (50U), 23°C por 5 minutos, 37°C por 1 hora, 90°C por 5 minutos e 5°C até o recolhimento das mesmas.

5.7.4 Detecção e quantificação das citocinas/marcador

Para a detecção das citocinas foram usadas as sequências de *primers* descritas no Quadro 4. Estes foram desenhados com base nas sequências de nucleotídeos disponível no *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) usando o *Primer Express Software* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), sendo previamente testados em relação à sua eficiência, bem como para o tipo de amostra avaliada.

QUADRO 4 - Primers utilizados

Iniciador (gene)	Sequência (5' – 3')	Tm (°C)	pb
CD4 ⁺ CD28 ⁺	FW: ACA GTG GTA GGA GCA ATG CTT TC RV: AAT AGC AGC AAA TGA CAT TGT TTT CT	72	74
IL-1 β	FW: TGG CAG AAA GGG AAC AGA A RV: ACA ACA GGA AAG TCC AGG CTA	73	59
IL-10	FW: GGT TGC CAA GCC TTG TCT GA RV: TCC CCC AGG GAG TTC ACA T	81	107
IFN- γ	FW: GAA CTG TCG CCA GCA GCT AAA RV: TGC AGG CAG GAC AAC CAT TA	80	95
MCP-1	FW: AAG ACC ATT GTG GCC AAG GA RV: CGG AGT TTG GGT TTG CTT GT	80	93
TGF- β	FW: TCT GCT GAG GCT CAA GTT AAA RV: ATC GCC AGG AAT TGT TGC	77	78
TNF- α	FW: TTC TGG CTC AAA AAG AGA ATT G RV: TGG TGG TCT TGT TGC TTA AGG	76	73
GAPDH	FW: GCA CCA CCA ACT GCT TAG CA RV: TGG CAG TGA TGG CAT GGA	80	96

Legenda: FW (*forward primer*); RV (*reverse primer*); Tm (Temperatura de anelamento); pb (pares de base do amplicon)

As reações da PCR em tempo real foram realizadas utilizando-se o *Step One Real-time PCR System* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) empregando-se o *SYBR-Green Detection System* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Para normalizar os níveis de expressão do mRNA foi utilizado o gene Desidrogenase de Gliceraldeído 3-fosfato (GAPDH) amplificado (QUADRO 3).

Células mononucleares de sangue periférico humano estimuladas por lipopolissacarídeo (PBMC + LPS) cultivadas por 24 e 48h foram utilizadas como controle positivo para a amplificação dos *primers*. O controle negativo foi realizado com água (DEPC). As amostras foram corridas em duplicata, em um volume de reação de 15 μ l com 1 μ g do cDNA.

Após a amplificação, foi realizada a análise dos dados com o *Sequence Detection System Software* (versão 2.3) (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Os resultados foram obtidos como valores do limiar do ciclo (Ct) e os níveis de expressão foram calculados usando o método comparativo C(T). Os valores foram calculados como o valor médio de duplicados para cada paciente, e os níveis de expressão de mRNAs de todas as amostras foram definidos como a proporção de cada um dos iniciadores específicos para a expressão de GAPDH.

5.8 Análise dos dados

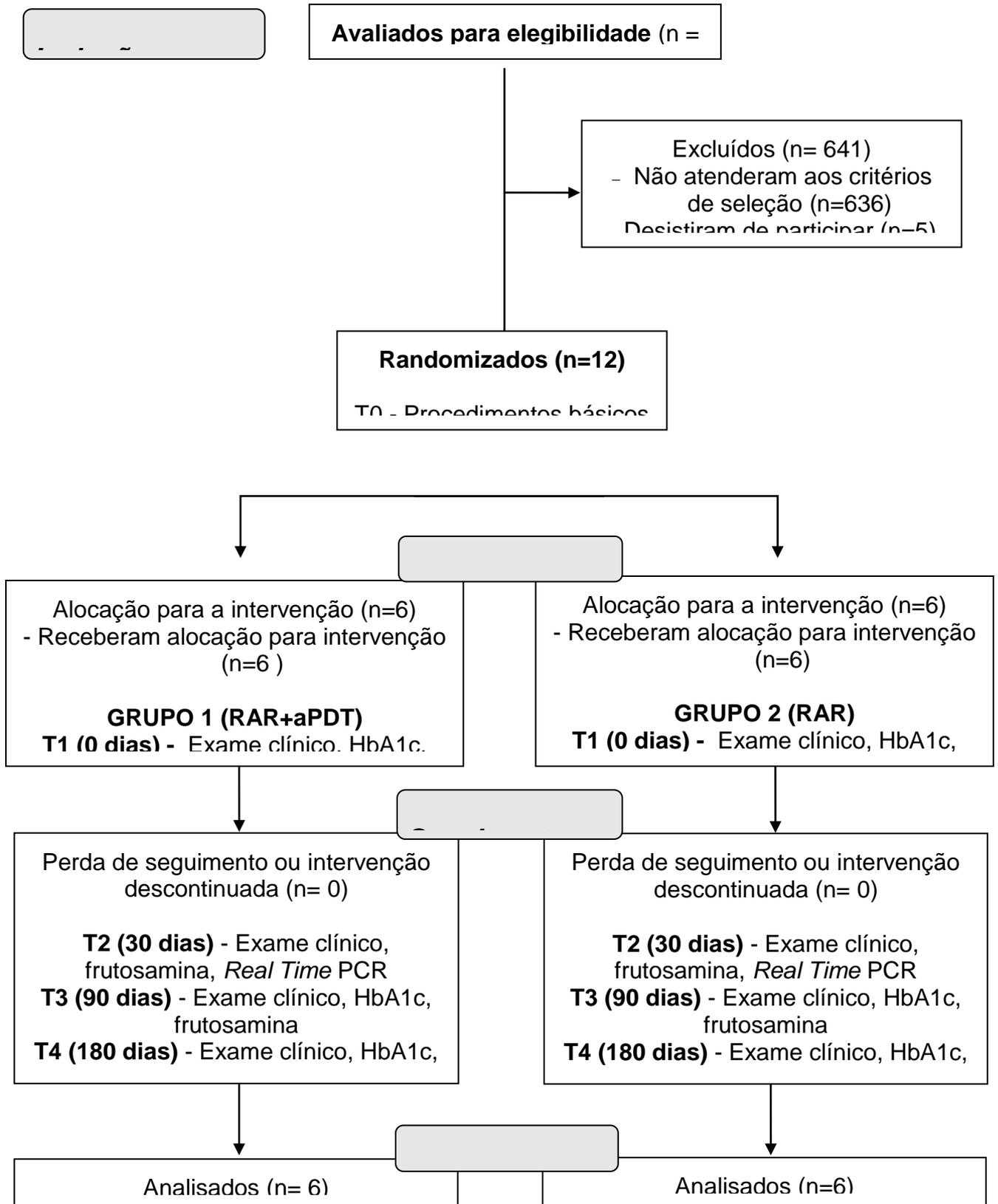
No estudo em questão, todos os indivíduos foram submetidos a uma modalidade de tratamento, e completaram o seguimento de 6 meses.

Para a análise estatística foi utilizado o programa SPSS para Windows (versão 18.0). Os dados foram avaliados inicialmente em relação à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e, como os mesmos não apresentavam distribuição normal, foram utilizados testes não paramétricos sendo o teste de Mann Whitney para comparação entre grupos e Wilcoxon para comparação intra-grupos. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5%.

5.9 Diagrama do estudo

O diagrama a seguir resume todo o protocolo de pesquisa, incluindo seleção da amostra, alocação, seguimento e análises realizadas (FIGURA 2).

FIGURA 2 – Diagrama do estudo



Fonte: Adaptado de CONSORT (2010)

6 RESULTADOS

6 RESULTADOS

Todos os indivíduos completaram o estudo, sendo as avaliações realizadas nos períodos determinados. Nenhum efeito adverso foi relatado durante todo o período e os mesmos mantiveram-se sob controle de placa individual recebendo, a cada visita, reforço das instruções de higiene bucal.

A amostra final foi composta por 12 pacientes, sendo 67% dos pacientes do sexo feminino e 33% do sexo masculino. A idade média foi de 52,2 anos e a duração média do *diabetes* relatada foi de 9,6 anos. Em relação à medicação utilizada, 67% dos pacientes faziam uso de hipoglicemiante oral, 8,3% de insulina e 24,7% associavam estas medicações (TABELA 1).

TABELA 1 - Caracterização demográfica e médica dos grupos

Variável	G1 (n=6)	G2 (n=6)	Total
Sexo			
Feminino	5 (83,3%)	3 (50%)	8 (67%)
Masculino	1 (16,7%)	3 (50%)	4 (33%)
Idade	55,2 ± 9,2	49,2 ± 10,8	52,2 ± 10,03
Duração do <i>diabetes</i>	11 ± 4,5	8,2 ± 8,7	9,6 ± 6,8
Medicação			
Hipoglicemiante oral (HO)	3 (50%)	5 (83,3%)	8 (67%)
Insulina	1 (16,7%)	0	1 (8,3%)
Insulina + HO	2 (33,3%)	1 (16,7%)	3 (24,7%)

Os dois grupos apresentaram-se homogêneos, sem diferenças estatisticamente significantes quando analisados os índices periodontais e parâmetros clínicos e metabólicos iniciais (TABELA 2).

A duração do diabetes também foi avaliada em relação à homogeneidade entre os grupos, visto que este poderia interferir na resposta aos tratamentos. O teste demonstrou não existir diferença estatística significativa entre os grupos em relação a esta variável ($p=0,2$) (TABELA 2).

TABELA 2 - Avaliação da homogeneidade entre os grupos pelos parâmetros clínicos periodontais, metabólicos e tempo de diabetes.

Parâmetro	G1 (n=6)	G2 (n=6)	*p
IP (%)	31,4 ± 3	32,4 ± 2,2	0,5
SSG (%)	43,9 ± 16,9	55,5 ± 33,1	0,6
PS (mm)	2,3 ± 0,4	2,9 ± 0,5	0,1
NIC (mm)	2,9 ± 0,8	3,1 ± 0,5	0,4
HbA1c (%)	8,8 ± 1,7	7,9 ± 1,9	0,3
Frutosamina (mcmol/l)	317 ± 72,2	285,5 ± 75,5	0,4
Duração do <i>diabetes</i>	11 ± 4,5	8,2 ± 8,7	0,2

IP (Índice de placa); SSG (Sangramento à sondagem gengival); PS (Profundidade à sondagem); NIC (Nível de inserção clínico); HbA1c (Hemoglobina glicada); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

* Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos ($p > 0,05$).

A tabela 3 mostra que o índice de placa não sofreu variações significativas dentro de cada grupo, mas em T2 (30 dias) foi demonstrado que o grupo teste apresentava este índice significativamente menor que o grupo controle ($p = 0,02$).

Avaliando o sangramento à sondagem, ambos os grupos demonstraram redução significativa do mesmo após o tratamento, sendo esta observada quando comparados T1 e T2 ($p = 0,04$ em G1 e G2), não havendo diferença entre os grupos (TABELA 3).

TABELA 3 - Medidas descritivas e comparativas dos índices periodontais por modalidade de tratamento e período de avaliação.

Índices periodontais	G1 (n=6)	G2 (n=6)	*p (G1-G2)
Índice de Placa (%)			
T1	31,4 ± 3	32,4 ± 2,2	0,5
T2	25,2 ± 5,5	37 ± 9,5	0,02
**p (T1-T2)	0,18	0,14	
T3	35,4 ± 3,2	36,1 ± 4,6	0,9
**p (T1-T3)	0,11	0,11	
T4	31,5 ± 6,2	35,4 ± 4,7	0,3
**p (T1-T4)	0,1	1	
Sangramento à Sondagem (%)			
T1	43,9 ± 16,9	55,5 ± 33,1	0,6
T2	18,7 ± 9,02	21,4 ± 12,3	0,9
**p (T1-T2)	0,04 T1>T2	0,04 T1>T2	
T3	22,4 ± 8,2	31,7 ± 13,9	0,3
**p (T1-T3)	0,07	0,2	
T4	18,7 ± 1,5	32,1 ± 11,2	0,05
**p (T1-T4)	0,04 T1 > T4	0,17	

T1 (Tratamento); T2 (30 dias); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

* Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos.

** Teste de Wilcoxon para comparação intra-grupos.

Em relação à profundidade à sondagem e nível de inserção clínica, os grupos não apresentaram diferenças entre si, mas houve redução das mesmas, que foram mantidas em todos os períodos de avaliação quando comparadas a T1 (TABELA 4).

TABELA 4 - Medidas descritivas e comparativas dos parâmetros clínicos por modalidade de tratamento e período de avaliação.

Parâmetros Clínicos	G1 (n=6)	G2 (n=6)	*p (G1-G2)
Profundidade à Sondagem (mm)			
T1	2,3 ± 0,4	2,9 ± 0,5	0,1
T2	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,6	0,1
**p (T1-T2)	0,03 T1>T2	0,03 T1>T2	
T3	1,7 ± 0,2	2,1 ± 0,7	0,2
**p (T1-T3)	0,03 T1 > T3	0,03 T1 > T3	
T4	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,7	0,3
**p (T1-T4)	0,03 T1 > T4	0,03 T1 > T4	
Nível de Inserção Clínico (mm)			
T1	2,9 ± 0,8	3,1 ± 0,5	0,4
T2	2,2 ± 0,5	2,1 ± 0,6	0,8
**p (T1-T2)	0,03 T1>T2	0,03 T1>T2	
T3	2,3 ± 0,6	2,2 ± 0,7	0,5
**p (T1-T3)	0,03 T1 > T3	0,03 T1 > T3	
T4	2,3 ± 0,6	2,3 ± 0,6	0,9
**p (T1-T4)	0,03 T1 > T4	0,03 T1 > T4	

T1 (Tratamento); T2 (30 dias); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

* Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos.

** Teste de Wilcoxon para comparação intra-grupos.

No que se refere à hemoglobina glicada e frutossamina, não houve diferenças significativas entre os grupos ou dentro dos mesmos em nenhum período de avaliação. As tabelas 5 a 8 e gráficos 1 e 2 mostram esses resultados.

TABELA 5 - Medidas descritivas e comparativas da Hemoglobina Glicada (HbA1C) por modalidade de tratamento.

Parâmetro Metabólico HbA1C (%)	G1 (n=6)	G2 (n=6)	*p (G1-G2)
T1	8,8 ± 1,7	7,9 ± 1,9	0,3
T3	9,1 ± 1,4	7,6 ± 1,7	0,2
T4	9,1 ± 2,0	7,5 ± 1,3	0,1

T1 (Tratamento); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

* Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos.

TABELA 6 - Medidas descritivas e comparativas da Hemoglobina Glicada (HbA1C) por período de avaliação.

Parâmetro Metabólico HbA1C (%)	G1 (n=6)	G2 (n=6)
T1	8,8 ± 1,7	7,91 ± 1,9
T3	9,1 ± 1,4	7,6 ± 1,7
**p (T1-T3)	0,2	0,28
Mudança percentual (%)	+0,3	-0,3
T4	9,1 ± 2,0	7,5 ± 1,3
**p (T1-T3)	0,3	0,6
Mudança percentual (%)	+0,3	-0,4

T1 (Tratamento); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

** Teste de Wilcoxon para comparação intra-grupos.

TABELA 7 - Medidas descritivas e comparativas da Frutosamina por modalidade de tratamento.

Parâmetro Metabólico Frutosamina (mcmol/L)	G1 (n=6)	G2 (n=6)	*p (G1-G2)
T1	317 ± 72,2	285,5 ± 75,5	0,4
T2	318 ± 72,4	276,2 ± 104,8	0,3
T3	320 ± 58,2	278,5 ± 86,2	0,3
T4	299,3 ± 73,4	266,8 ± 85,8	0,5

T1 (Tratamento); T2 (30 dias); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

* Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos.

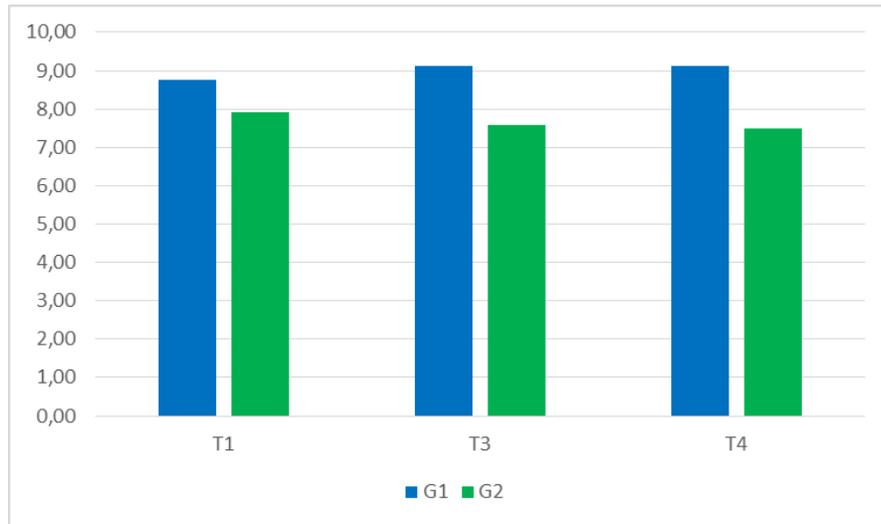
TABELA 8 - Medidas descritivas e comparativas da Frutosamina por período de avaliação.

Parâmetro Metabólico Frutosamina (mcmol/L)	G1 (n=6)	G2 (n=6)
T1	317 ± 72,2	285,5 ± 75,5
T2	318 ± 72,4	276,2 ± 104,8
**p (T1-T2)	0,8	0,3
T3	320 ± 58,2	278,5 ± 86,22
**p (T1-T3)	0,9	0,46
T4	299,3 ± 73,4	266,8 ± 85,8
**p (T1-T3)	0,1	0,4

T1 (Tratamento); T2 (30 dias); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

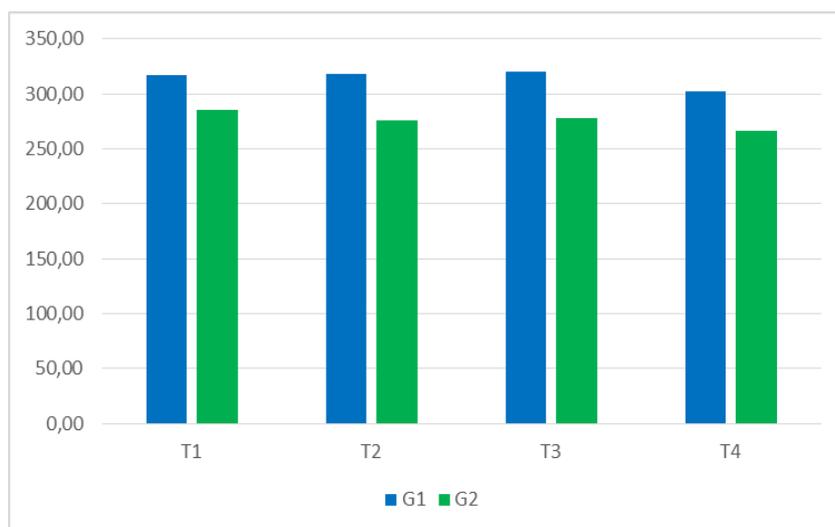
** Teste de Wilcoxon para comparação intra-grupos.

GRÁFICO 1 - Variação da hemoglobina glicada (HbA1C) entre os grupos, por período de avaliação (%).



T1 (Tratamento); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).
Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos.

GRÁFICO 2 - Variação da frutossamina entre os grupos, por período de avaliação (mcmmol/L).

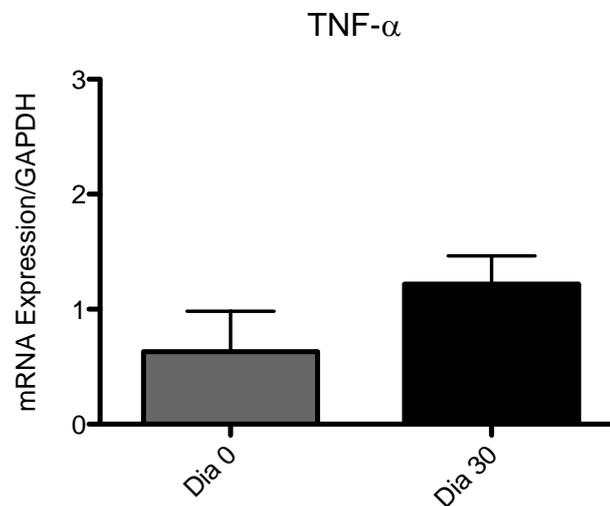


T1 (Tratamento); T2 (30 dias); T3 (90 dias); T4 (180 dias); G1 (Grupo teste); G2 (Grupo controle).

* Teste de Mann Whitney para comparações entre grupos.

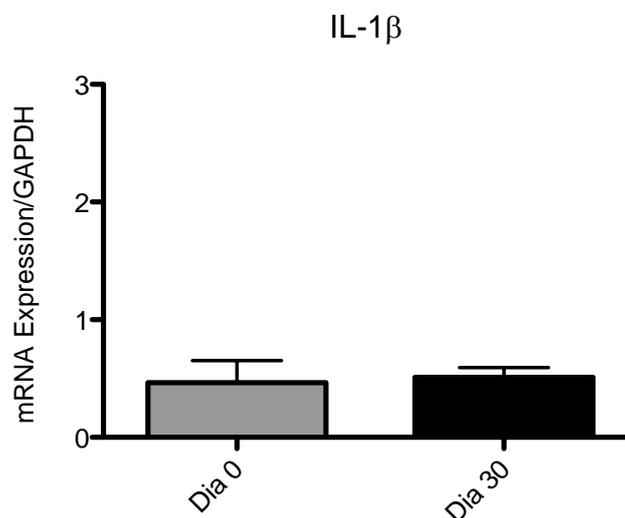
Em relação à caracterização da resposta imunoinflamatória, a análise por PCR em tempo real dos níveis de expressão do mRNA das citocinas TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- γ , IL-10, TGF- β , CD4⁺CD28⁺ foi realizada utilizando-se amostras recuperadas das bolsas periodontais de todos os pacientes, considerando-se a comparação dos períodos pré-tratamento (T1) e 30 dias após o mesmo (T2), independentemente da modalidade. Não houve diferença significativa na expressão de TNF- α , IL-1 β , MCP-1 e TGF- β (GRÁFICOS 3 a 6).

GRÁFICO 3 - Variações nos níveis de TNF- α de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



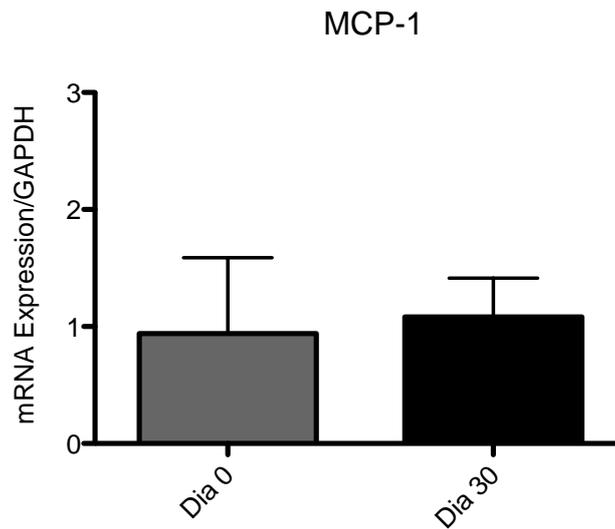
Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p > 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

GRÁFICO 4 - Variações nos níveis de IL-1 β de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



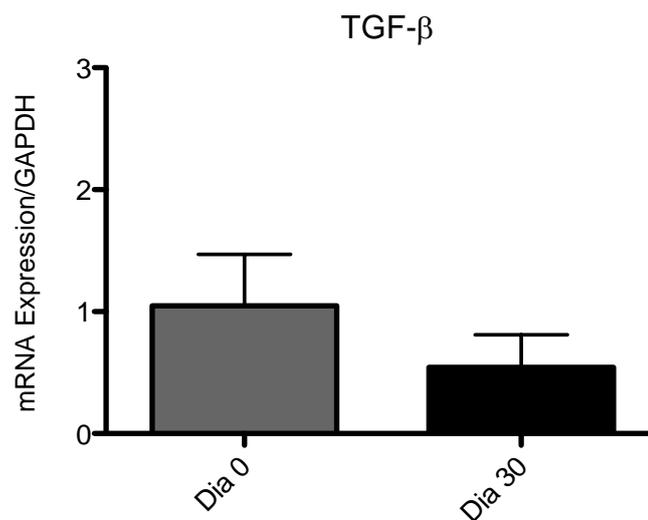
Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p > 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

GRÁFICO 5 - Variações nos níveis de MCP-1 de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p > 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

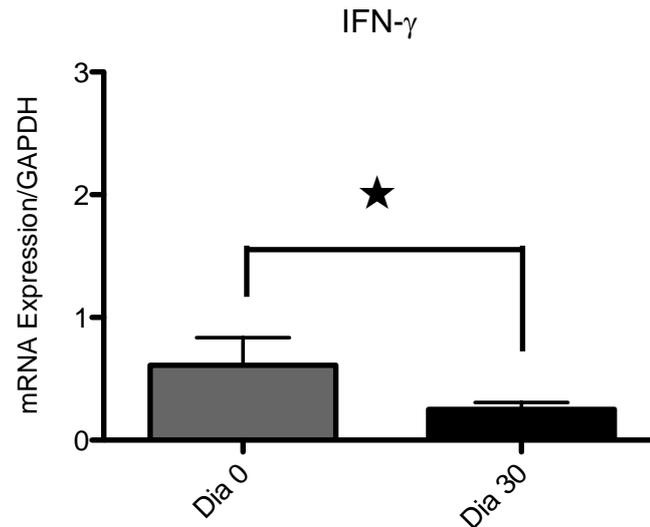
GRÁFICO 6 - Variações nos níveis de TGF- β de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p > 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

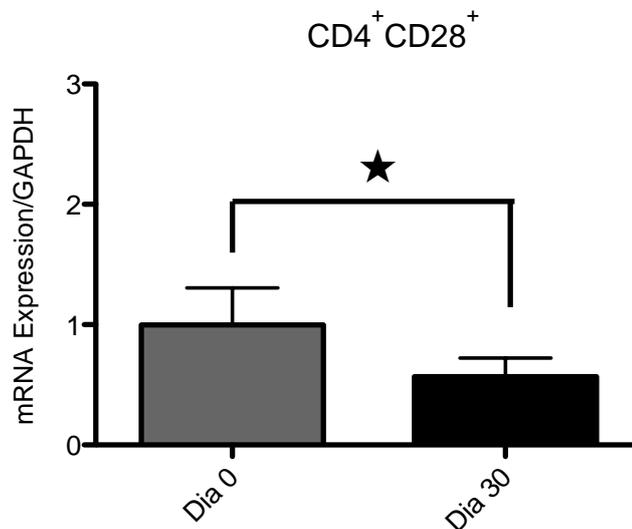
Por outro lado, observou-se uma redução significativa na expressão gênica da citocina IFN- γ e do marcador celular CD4⁺CD28⁺, paralelamente a um aumento na expressão de IL-10, trinta dias após a instituição da terapia periodontal. Estes resultados são demonstrados nos gráficos 7 a 9.

GRÁFICO 7 - Variações nos níveis de IFN- γ de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



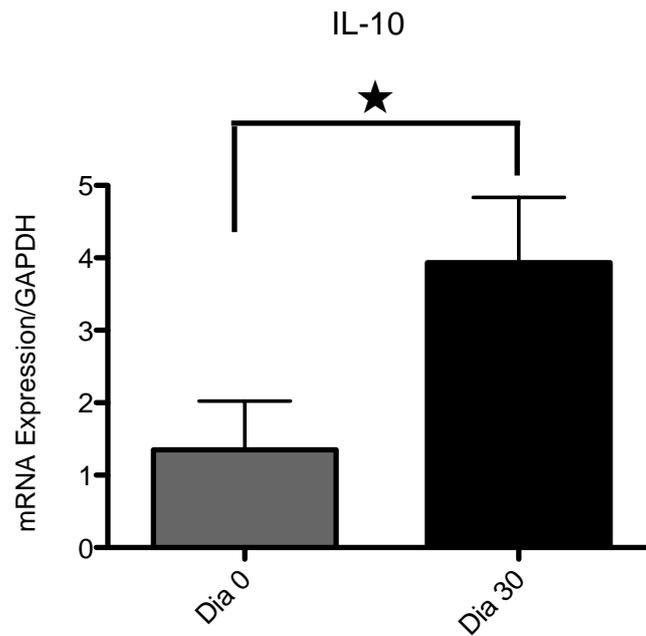
Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p < 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

GRÁFICO 8 - Variações nos níveis de CD4⁺CD28⁺ de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p < 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

GRÁFICO 9 - Variações nos níveis de IL-10 de G1 e G2 entre os períodos T1 e T2.



Teste de Wilcoxon para comparações entre T1 (dia 0) e T2 (dia 30) ($p < 0,05$).
Nota: Barras - valores médios das amostras ($n=12$); Linhas - desvio padrão.

7 DISCUSSÃO

Neste trabalho a amostra foi composta por 12 indivíduos, visto o rigor dos critérios de inclusão/exclusão adotados. Estes critérios, por sua vez, minimizam variáveis confundidoras, porém restringem o número amostral (FARIA-ALMEIDA; NAVARRO; BASCONES, 2006).

Um dos critérios de inclusão utilizado foi a presença de, no mínimo, 15 dentes excetuando-se os terceiros molares, critério este adotado em outros trabalhos com diabéticos (CORREA *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009; CORREA *et al.*, 2010).

Estudos tem mostrado a relação da perda dental pela doença periodontal associada ao *diabetes* (AL-SHAMMARI *et al.*, 2005; KAUR *et al.*, 2009; PATEL; KUMAR; MOSS, 2013). Neste estudo, quando a população alvo foi avaliada, a maioria dos indivíduos não cumpriu este requisito de número mínimo de dentes, muitos eram totalmente edêntulos ou apresentavam número menor que o estabelecido, o que pode ser explicado pela dificuldade de acesso aos serviços odontológicos, visto que a população foi proveniente de usuários do sistema público de saúde.

Além disso, para definição dos casos de periodontite, foram utilizados os critérios propostos por Page e Eke (2007), que estabelecem para a periodontite moderada a presença de perda de inserção $\geq 4\text{mm}$ em dois ou mais sítios ou profundidade à sondagem interproximal $\geq 5\text{mm}$ em dentes diferentes e, para a periodontite grave a perda de inserção $\geq 6\text{mm}$ (em dentes diferentes) e um ou mais sítios com profundidade à sondagem $\geq 5\text{mm}$. Tais critérios são adotados para definição dos casos de periodontite pela *American Academy of Periodontology* (AAP) e *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)

Considerando ainda o diagnóstico de periodontite, este estudo propôs avaliar pacientes com periodontite generalizada que, conforme Armitage (2010), é determinada quando mais de 30% dos dentes presentes na boca estão comprometidos pela doença periodontal.

Os critérios de inclusão acima citados foram considerados muito valiosos, pois quando se objetiva avaliar a influência da doença periodontal e seu tratamento sobre o controle metabólico do *diabetes*, estes itens podem interferir profundamente nas análises. Parece provável que indivíduos com um maior número de dentes/sítios

presentes e acometidos pela doença apresentem uma infecção proporcionalmente maior, com provável aumento do impacto sobre o controle metabólico, o que já foi demonstrado por Nesse *et al.* (2009).

Desta forma, tanto o número mínimo de dentes quanto a definição da periodontite e sua extensão influenciaram de forma bastante impactante o tamanho da amostra deste estudo, mas a mesma foi considerada uma amostra de qualidade para as avaliações realizadas.

Os critérios de exclusão relacionados ao uso de antibióticos, presença de outra condição sistêmica associada à doença periodontal e uso do fumo também influenciaram de forma significativa a amostra. Muitos pacientes avaliados faziam uso do fumo ou apresentavam alguma doença sistêmica com influência sobre a doença periodontal, o que poderia influenciar nas respostas aos tratamentos. Além disso, pacientes diabéticos têm sua resposta imune comprometida (CASQUEIRO; CASQUEIRO; ALVES, 2012) e, é comum que desenvolvam infecções que necessitem ser tratadas com antibióticos sistêmicos, o que foi observado em alguns dos indivíduos avaliados. Poucos pacientes foram excluídos pelos demais critérios.

Uma amostra de 15 indivíduos por grupo foi apresentada em trabalhos com desenho próximo ao deste, nos quais o número de indivíduos foi estabelecido com base na redução da profundidade à sondagem e níveis de HbA1c, significância e poder do teste (AL-ZAHANI, *et al.*, 2009; MACEDO *et al.*, 2014), porém trabalhos utilizando amostras menores que a citada anteriormente compõem a literatura sobre o tema (FARIA-ALMEIDA; NAVARRO; BASCONES, 2006; NAVARRO-SANCHEZ; FARIA-ALMEIDA; BASCONES-MARTINEZ, 2007).

Revisões sistemáticas sobre a melhoria metabólica dos diabéticos pós tratamento periodontal afirmam que os estudos atuais apresentam pequenas amostras, e que os resultados poderiam ser melhor avaliados com o aumento das mesmas (JANKET *et al.*, 2005; DARRÉ *et al.*, 2008; TEEUW; GERDES; LOOS, 2010).

Após a determinação da amostra, foi definida sua forma de randomização. Optou-se pela realização de uma amostra randomizada por blocos, sendo o sorteio realizado a cada quatro indivíduos selecionados. Esta forma de randomização foi escolhida por assegurar uma distribuição balanceada entre o número de participantes nos grupos de estudo, especialmente em amostras pequenas, como no

caso em questão (EFIRD, 2010). Um benefício observado neste processo, foi a redução da perda da amostra pré-tratamento, visto que os indivíduos foram incluídos no estudo em momentos diferentes e, caso a opção de randomização aguardasse a inclusão de toda a amostra proposta (como uma randomização simples), o período para a seleção da mesma foi longo (março de 2012 a abril 2013) e talvez alguns indivíduos poderiam ser perdidos por fatores diversos como a necessidade de tratamento e/ou agravamento da condição periodontal, mudança de local, etc.

A realização do mascaramento previne avaliações e julgamentos tendenciosos, mas nem sempre o mesmo pode ser realizado devido às limitações técnicas e/ou éticas do estudo (CUMMINGS, GRADY; HULLEY, 2008). Este estudo, devido às limitações técnicas, realizou o mascaramento na amostra. Trabalhos com desenho aproximado a este, utilizando a aPDT em diabéticos, não descreveram sua realização na amostra (AL-ZAHANI, *et al.*, 2009; MACEDO *et al.*, 2014), porém ambos o realizaram para examinador e operador.

A periodontite tem como determinante a placa bacteriana, a qual deve ser eliminada de forma efetiva para o controle da enfermidade. A raspagem e alisamento radicular (RAR) é a modalidade não cirúrgica padrão para tratamento da doença periodontal, no entanto esta terapia isolada muitas vezes não é capaz de estagnar totalmente a infecção periodontal, demandando a utilização de tratamentos adjuvantes (ENGBRETSON; HEY-HADAVI, 2011; GILOWSKI *et al.*, 2012; BOTERO *et al.*, 2013; MUNENAGA *et al.*, 2013).

A utilização de antibióticos, locais ou sistêmicos, tem sido amplamente utilizada na prática periodontal, principalmente em casos onde os pacientes apresentam respostas imunológicas e teciduais comprometidas, como no caso do *diabetes* (ALMEIDA *et al.*, 2013), mas apesar de alguns benefícios desta associação serem observados, a resistência bacteriana e os efeitos adversos têm limitado seu uso. Alternativas como a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) têm sido pesquisadas para o uso na periodontia (CAMPOS *et al.*, 2013).

Nesta pesquisa, a terapia fotodinâmica foi aplicada em um dos grupos como adjuvante ao tratamento de raspagem e alisamento radicular (G1 = RAR + aPDT) em pacientes diabéticos portadores de periodontite crônica de moderada a grave. O grupo controle recebeu como tratamento somente a raspagem e alisamento radicular (G2 = RAR).

A literatura não apresenta protocolos padronizados para a aplicação da aPDT e diante disso salienta-se a necessidade de padronização dos mesmos para que sua eficácia e resultados possam ser comparáveis. Na ausência de um protocolo padrão, a literatura foi avaliada e um protocolo foi desenvolvido, considerando os fatores abaixo como determinantes para o estabelecimento deste.

O tempo pré-irradiação deste estudo foi de 5 minutos após a aplicação do fotossensibilizador, período este considerado dentro do satisfatório para interação do mesmo com os microrganismos (SOUSA, 2007).

Para a aplicação da aPDT, tanto a dosagem do fotossensibilizador, o comprimento de onda e a densidade de energia são fatores determinantes para sua eficácia. Neste trabalho, foi utilizado o corante azul de metileno na concentração de 0,01%, considerada eficaz para periodontopatógenos sem toxicidade aos tecidos (CHAN; LAI, 2003). O comprimento de onda 660nm, padrão do aparelho de emissão de luz utilizado, foi adequado à banda de absorção do agente fotossensibilizador que, de acordo com Amorim (2007), se encontra entre 620-700nm. Em relação à densidade energia, neste estudo foi utilizado um total aproximado de 100 J/cm² por dente. Este parâmetro muitas vezes não é bem detalhado nos trabalhos (AL-ZAHARANI *et al.*, 2009), ou apresenta valores menores (MACEDO *et al.*, 2014), podendo ser influenciado pela potência dos diferentes aparelhos existentes no mercado. Este estudo utilizou um valor próximo ao utilizado por Campos *et al.* (2013), considerado eficaz para a associação com a RAR.

A terapia periodontal não cirúrgica, feita pela raspagem e alisamento foi realizada em ambos os grupos. Esta modalidade de tratamento depende da habilidade do operador e, neste estudo, por se tratar de operador experiente, a RAR foi realizada em duas sessões com intervalos de 24 horas, visando diminuir o número de sessões e proporcionando uma padronização no tempo de trabalho para cada paciente. A RAR realizada desta forma é segura e apresenta resultados clínicos favoráveis no tratamento da periodontite em diabéticos (SANTOS *et al.*, 2009).

Com os tratamentos aplicados, os resultados mostraram melhora significativa nos parâmetros clínicos de sangramento à sondagem gengival (SSG), profundidade à sondagem (PS) e nível de inserção clínica (NIC) em ambos os grupos quando reavaliados 30 dias após o tratamento. Esta melhora se manteve estável para PS e

NIC nas avaliações após 3 e 6 meses de tratamento, já o SSG apresentou variações nestas avaliações, sendo somente significativa a diferença entre 6 meses e baseline no grupo RAR + aPDT. O índice de placa não sofreu variações significativas em nenhum dos períodos dentro dos grupos, porém foi observada uma diferença significativa na comparação entre os grupos entre os períodos de tratamento e 30 dias, diferença revelada pela maior redução de placa no grupo teste ($p = 0,02$). Acredita-se que esta diferença foi devida ao próprio controle de placa pelo paciente, não havendo dados que suportem que foi provocada pelo tratamento, visto que a aplicação do fotossensibilizador e luz foi realizada na região subgengival e ainda, que a colonização pela placa supragengival é diretamente dependente do controle do paciente.

Ressalta-se que todos os pacientes demonstraram melhoria nas condições clínicas periodontais, o que também foi observado em outros estudos (FARIA-ALMEIDA; NAVARRO; BASCONES, 2006; NAVARRO-SANCHEZ; FARIA-ALMEIDA; BASCONES-MARTINEZ, 2007; SANTOS *et al.*, 2009; CORREA *et al.*, 2010, MACEDO *et al.*, 2014). Observando que os pacientes diabéticos responderam muito bem ao tratamento periodontal com RAR, acredita-se que tal melhoria e estabilidade na condição de saúde bucal pode impactar a saúde global destes pacientes, bem como sua qualidade de vida.

Alguns trabalhos (CHONDROS *et al.*, 2009; GE *et al.*, 2011) mostraram que a terapia fotodinâmica reduz significativamente o sangramento à sondagem em pacientes saudáveis, o que não foi observado neste estudo. Saliencia-se o fato de que a amostra deste estudo foi composta por portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 ou seja, indivíduos com comprometimento imune e provável microangiopatia gengival (ANDERSEN *et al.*, 2007). Recente publicação avaliou o impacto desta terapia através de uma revisão e os autores relataram que a eficácia da aPDT neste tipo de paciente ainda não é clara devido aos poucos trabalhos existentes e ainda aos diferentes desenhos experimentais apresentados (JAVED *et al.*, 2013).

Apesar de resultados favoráveis à terapia periodontal associada à aPDT, esta ainda é avaliada com ressalvas, visto que os estudos têm demonstrado resultados conflitantes, portanto os dados são inconclusivos quanto a superioridade da associação da mesma em relação à raspagem isolada (KARLSSON; LÖFGREN; JANSSON, 2008; AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2011).

Neste estudo, verificou-se que a terapia fotodinâmica em uma única aplicação não produziu efeitos superiores à RAR isolada, o que também foi relatado por Macedo *et al.* (2014). Este autor sugere que talvez, múltiplas aplicações da aPDT possam melhorar seu efeito, o que deve ser investigado.

Apesar de Almeida *et al.* (2008) terem demonstrado, em ratos, a superioridade da aPDT + RAR em relação à RAR isolada, estudos em humanos não encontraram estes resultados em diabéticos (AL-ZAHRANI *et al.*, 2009; MACEDO *et al.*, 2014), confirmando os achados deste trabalho.

Na caracterização do *diabetes*, a duração da doença não mostrou diferença significativa entre os grupos. Apesar desta variável não ter sido objeto específico de avaliação neste trabalho, sugere-se que estudos posteriores para avaliação da resposta ao tratamento periodontal nestes pacientes atentem para a influência da mesma, visto que o tempo da doença em diabéticos do tipo 2, associado a um mau controle metabólico se relaciona à falência da função das células β e existência de complicações crônicas, o que pode dificultar o controle do *diabetes* bem como a resposta ao tratamento periodontal.

Em relação aos parâmetros metabólicos, o estudo não mostrou diferenças entre os grupos ou dentro dos mesmos nas dosagens de hemoglobina glicada (HbA1c) e frutamina em nenhuma avaliação, resultado encontrado por Al-Zahrani *et al.* (2009) que, apesar de ter encontrado uma redução significativa nos níveis de HbA1c em um de seus grupos de tratamento, atribuiu o resultado à administração da doxiciclina a este grupo. Estudo anterior já havia demonstrado esta relação, visto que a utilização deste medicamento pode modular a resposta do hospedeiro inibindo a formação de metaloproteinases e a glicosilação não enzimática levando à redução de HbA1c (O'CONNELL *et al.*, 2008).

Especificamente em relação à hemoglobina glicada, os resultados deste trabalho confirmam os encontrados por Engebretson *et al.* (2013), que demonstraram que a terapia periodontal não é capaz de provocar mudanças estatisticamente significativas nos níveis glicêmicos.

Entretanto, quando os dados do grupo controle (G2) são analisados de forma bruta, observa-se uma redução direta na média da HbA1c de 0,3% e 0,4% nos períodos de 3 e 6 meses respectivamente. Do ponto de vista da clínica médica estes percentuais de redução podem ser observados quando da utilização de

determinados hipoglicemiantes orais (INZUCCHI *et al.*, 2009). Drogas hipoglicemiantes como os inibidores da α -glucosidase, glinidas, incretinomiméticos e tiazolidinedionas demonstram percentuais médios de redução da HbA1c a partir de 0,5% (NATHAN *et al.*, 2009; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014), valor muito próximo do encontrado no período de 6 meses da pesquisa (0,4%).

De posse destes dados, chama-se a atenção para o fato de que a terapia periodontal, apesar de não ser estatisticamente significativa na redução da HbA1c no desenho de estudo proposto, pode trazer benefícios clínicos aos diabéticos, pois estes percentuais de redução da hemoglobina glicada, dentro da endocrinologia, são comparáveis a redução promovida por medicações utilizadas para o tratamento do diabetes e, muitas vezes, indica-se a associação medicamentosa e/ou aumento da dose das medicações já instituídas para que tais efeitos sejam alcançados, havendo o risco de potenciais efeitos colaterais (INZUCCHI *et al.*, 2009; NATHAN *et al.*, 2009).

Neste caso, se o tratamento periodontal pode oferecer benefícios clínicos ao paciente, o mesmo deve ser oferecido a este em caso de necessidade. Adiciona-se ainda o fato de que a presença de periodontite pode contribuir através de sua resposta imunoinflamatória para a resistência à insulina e intolerância à glicose (MEALEY; OCAMPO, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2013).

Esta visão clínica deve ser objeto de reflexão e discussões estendidas a médicos e dentistas, pois observa-se na prática clínica a grande relação entre as doenças, sugerindo uma atuação múltipla destes profissionais na abordagem aos pacientes diabéticos (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2009).

Em relação à frutossamina, conforme indicações, sua avaliação foi realizada para verificar a resposta metabólica a curto prazo, pois mensuração da mesma se baseia na glicosilação da albumina, que tem meia vida de 2 a 3 semanas. Assim como a HbA1c este teste não sofreu variações.

Outros trabalhos utilizaram a glicemia sanguínea para avaliar mudanças nos níveis de glicose a curto prazo (O'CONNELL *et al.*, 2008; CORREA *et al.*, 2010), porém esta reflete a glicemia no momento, e não uma média de um curto período. Assim, este estudo considerou o uso da frutossamina um indicador mais potente para medidas de curtos períodos, pois este exame é indicado principalmente quando uma nova medida terapêutica é instituída, sendo particularmente importante, neste

estudo, no período entre o tratamento e avaliação de 30 dias. Nos demais períodos foi utilizada para monitoramento do paciente.

Cabe salientar que o controle glicêmico dos pacientes pode ser influenciado por diversos fatores como estilo de vida, dieta, adesão ao tratamento, etc. (MACEDO, 2009; MACEDO *et al.*, 2014), fatores que não foram controlados neste estudo por dificuldades técnicas.

Nesta pesquisa, foram estudados 12 pacientes diabéticos com periodontite crônica, moderada a grave e generalizada, submetidos à raspagem e alisamento radicular. No momento dos exames clínicos realizados no período anterior ao tratamento (T1) e pós-tratamento (T2) foram colhidas amostras de fluido crevicular gengival (FCG) de bolsas periodontais destes pacientes, as quais foram submetidas à análise por *Real Time* PCR (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real) para avaliação da expressão gênica das citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-10, IFN- γ , TGF- β , MCP-1 e do marcador para linfócitos T CD4⁺ (CD28) (CD4⁺CD28⁺).

Esta análise foi realizada comparando-se os níveis destas citocinas/marcador no período anterior ao tratamento (T1) e pós-tratamento (T2), buscando caracterizar o padrão inflamatório apresentado pelos pacientes diabéticos antes e após tratamento periodontal, independentemente da modalidade de tratamento.

A expressão de TNF- α , IL-1 β , MCP-1, TGF- β , IFN- γ e IL-10 e CD4⁺CD28⁺ foi observada no FCG dos diabéticos, tanto antes quanto após o tratamento periodontal. Este fato demonstra que citocinas não atuam de forma isolada e reforçam a hipótese de que o equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e reguladoras irão determinar a progressão da periodontite ou manutenção da homeostase (KAYAL, 2013).

As células T expressam diferentes receptores que são importantes no recrutamento de leucócitos para sítios doentes (BRITO *et al.*, 2012) e, a análise da expressão gênica de receptores em células T CD4⁺ é importante para determinar o efeito das respostas imunológicas contra patógenos (GRAVES, 2008).

A ativação destas células envolve o reconhecimento de um antígeno específico e uma sinalização a partir de moléculas co-estimuladoras, sendo a molécula CD28 expressa na superfície de mais de 95% dos linfócitos T CD4⁺ (BRITO *et al.*, 2014).

A expressão deste receptor no FCG está relacionada com a presença de diferentes subtipos de células efectoras T CD4⁺ e, é sugerido, que a resposta imune adaptativa associada a estas células e citocinas pró-inflamatórias que secretam, está envolvida com a perda óssea periodontal pela infecção bacteriana (GRAVES, 2008).

Neste estudo, foi realizada a avaliação da expressão dos receptores para células T CD4⁺CD28⁺ e os resultados demonstraram uma diminuição significativa na expressão deste gene após o tratamento periodontal. A literatura não apresenta dados suficientes sobre a real participação das células T CD4⁺ na periodontite, demandando estudos no intuito de compreender seu verdadeiro papel porém, este resultado pode sugerir uma redução no conteúdo antigênico após o tratamento da periodontite, visto que a resolução da infecção poderia levar a uma menor expressão de células ativadas.

Citocinas como IL-1 β e TNF- α têm importante destaque na patogênese da periodontite, sendo consideradas potentes indutoras de reabsorção óssea. O aumento de seus níveis na periodontite determina uma intensa inflamação periodontal e perda óssea alveolar, desencadeada pelo estímulo à secreção de quimiocinas e outros mediadores da resposta inflamatória, incluindo o aumento na expressão de MMPs (GARLET *et al.*, 2005; GRAVES, 2008).

Neste estudo, os níveis de IL-1 β e TNF- α no FCG não demonstraram mudanças estatisticamente significantes na sua expressão, comparando-se os períodos T1 e T2. Não foram encontrados estudos que avaliassem a expressão destas citocinas no FCG após 30 dias do tratamento periodontal porém, Navarro-Sanchez *et al.* (2007) e Macedo (2009) reportaram uma redução significativa nos níveis de IL-1 β presentes no FCG de diabéticos 3 meses após a terapia periodontal não cirúrgica, sendo encontrada também a redução de TNF- α após o mesmo período (NAVARRO-SANCHEZ *et al.*, 2007).

Na periodontite o MCP-1 é produzido por células endoteliais, fagócitos gengivais sob o estímulo de citocinas como TNF- α e IL-1 β . Seus níveis estão diretamente relacionados com a inflamação dos tecidos periodontais, sendo associada com a remodelação óssea inflamatória (GRAVES, OATES; GARLET, 2011; GARLET *et al.*, 2012).

No presente trabalho, os níveis de expressão de MCP-1 não demonstraram diferença estatisticamente significativas entre T1 e T2. Não foram encontrados

estudos que observaram sua expressão no período de avaliação aqui proposto, bem como de sua avaliação no FCG de diabéticos, mas esta citocina manteve um padrão de expressão bem semelhante à IL-1 β e TNF- α , que podem sintetizar MCP-1, bem como estimular sua expressão no ligamento periodontal (PRADEEP; DAISY; HADGE, 2009).

Em diabéticos, esta citocina tem sua expressão relacionada à resistência à insulina (ODEGAARD *et al.*, 2007) e, na periodontite, seus níveis aumentados nos tecidos gengivais de ratos diabéticos podem sugerir uma indução da inflamação gengival pelo *diabetes* (SAKALLIOĞLU *et al.* 2008).

O IFN- γ é uma citocina pró-inflamatória produzida por células T *helper* 1 (Th1) e está presente em níveis aumentados na periodontite crônica (ESCOBAR, 2009). Entre suas ações destacam-se a atração de macrófagos e aumento de fagócitos locais, estímulo à formação de osteoclastos e indução da liberação de citocinas (GEMMELL; SEYMOUR, 2004; DUTZAN *et al.*, 2009).

Os resultados deste estudo demonstraram redução estatisticamente significativa nos níveis de INF- γ após o tratamento periodontal. Este achado vem ao encontro a trabalhos anteriores, que mostraram um aumento na expressão desta citocina no FCG de pacientes portadores de periodontite crônica (TSAI *et al.*, 2007; DUTZAN *et al.*, 2009), que foi diminuída após o tratamento periodontal não cirúrgico (TSAI *et al.*, 2007).

O TGF- β é produzido por células Treg e tem importantes efeitos inibitórios sobre células Th1, Th2, B e *Natural Killer*, atuando ainda na regulação de TNF- α e IL-1 β (PRESHAW; TAYLOR, 2011; GARLET *et al.*, 2012). Na periodontite crônica, suas concentrações aumentadas no FCG apontam para um efeito modulador na resposta inflamatória e minimização da extensão do dano causado pela periodontite (ESCOBAR, 2009).

Neste trabalho, os níveis desta citocina diminuíram no fluido gengival após o tratamento periodontal, porém tal redução não foi estatisticamente significativa. Resultado semelhante foi descrito por Escobar (2009), que relacionou esta tendência na diminuição dos níveis de TGF- β no FCG, após o tratamento periodontal, com a intensificação da resposta inflamatória para a resolução da periodontite.

A IL-10 é produzida por células T *helper* 2 (Th2) e T regulatórias (Treg) e tem papel protetor na destruição tecidual, por inibir a reabsorção óssea e atuar de forma imunorreguladora na secreção de IFN- γ e IL-17 (GARLET *et al.*, 2012; SOBOKU *et al.*, 2014).

Na avaliação realizada neste estudo, os níveis de IL-10 eram mais baixos durante a periodontite e aumentaram de forma estatisticamente significativa após o tratamento periodontal, corroborando os achados de Goutoudi, Diza e Arvanitidou (2004), que encontraram níveis diminuídos de IL-10 na periodontite e aumentados após o tratamento da mesma.

A resistência ou susceptibilidade à periodontite é regulada pelo balanço entre as células Th1 ou Th2. As células Th1 secretam IFN- γ e promovem uma imunidade celular mediada pela ativação de macrófagos e Th2 secretam IL-4 e IL-10, objetivando suprimir as respostas mediadas por células (GEMMEL; SEYMOUR, 2004). Neste estudo, a redução nos níveis de INF- γ e aumento nos níveis de IL-10 parecem demonstrar uma regulação entre estas citocinas, evidenciando o papel protetor da IL-10 na inibição da reabsorção óssea e imunorregulador, visto que interfere na secreção do IFN- γ (GEMMEL; SEYMOUR, 2004; SOBOKU *et al.*, 2014).

8 CONCLUSÕES

8 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A terapia periodontal não cirúrgica, realizada através da raspagem e alisamento radicular, melhora o índice de sangramento, profundidade à sondagem e nível de inserção clínico em pacientes diabéticos, sendo importante o benefício clínico observado e demonstrado estatisticamente;
- A associação da aPDT à terapia periodontal não cirúrgica não apresenta benefícios adicionais em pacientes diabéticos, quando avaliados os índices de placa, sangramento e os parâmetros de profundidade à sondagem e nível de inserção clínico;
- A terapia periodontal, associada ou não à aPDT, não interfere com significância estatística no controle glicêmico de pacientes diabéticos, quando avaliado o impacto sobre a HbA1c e frutossamina.
- O tratamento periodontal não cirúrgico parece influenciar na melhoria da resposta inflamatória periodontal de pacientes diabéticos quando avaliada a expressão de citocinas no FCG.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. *Imunologia celular e molecular*. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 564 p.
- ALMEIDA, J.M.; GARCIA, V.G.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.H.; MACARINI, V.C. Terapia fotodinâmica: uma opção na terapia periodontal. *Arquivos em Odontologia*, v. 42, n. 3, p. 161-256, 2006.
- ALMEIDA, J.M.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.; BONFANTE, S.; GARCIA V.G. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. *Journal of Periodontology*, v. 79, n. 11, p. 2156-2165, 2008.
- ALMEIDA, R.F.; ALBA, A.L.; CASANOVAS, H.J.R.; GONZÁLEZ, D.H. Efectos de las enfermedades periodontales sobre la diabetes. *Avances em Diabetologia*, v. 29, n. 5, p. 151-159, 2013.
- AL-SHAMMARI, K.F.; AL-KHABBAZ, A.K.; AL-ANSARI, J.M.; NEIVA, R.; WANG, H-L. Risk Indicators for Tooth Loss Due to Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, v. 76, n. 11, p. 1910-1918, 2005.
- AL-ZAHRANI, M.S.; BAMSHMOUS, S.O.; ALHASSANI, A.A.; AL-SHERBINI, M.M. Short-term effects of photodynamic therapy on periodontal status and glycemic control of patients with diabetes. *Journal of Periodontology*, v. 80, n. 10, p. 1568-1573, 2009.
- AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Epidemiology of periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, v. 76, p. 1406-1419, 2005.
- AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. American academy of periodontology statement on the efficacy of lasers in the non-surgical treatment of inflammatory periodontal disease. *Journal of Periodontology*, v. 82, n. 4, p. 513-514, 2011.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes-2013. *Diabetes Care*, v. 36, p. S11-S66, 2013.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. *Prevention of Infective (bacterial) Endocarditis Prophylaxis: Walet Card*. Disponível em: <http://www.heart.org/idc/groups/heart-public/@wcm/@hcm/documents/downloadable/ucm_307684.pdf>. Acesso em: 03 mar 2014.
- AMORIM, J.C.F. *Ação fototóxica do laser em baixa intensidade e diodo de emissão de luz (LED) na viabilidade do fungo trichophyton rubrum: estudo "in vitro"*. 2007.

85p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

ANDRADE, P.F. *Avaliação da terapia antimicrobiana fotodinâmica na modulação das respostas imunoinflamatória e cicatricial dos tecidos periodontais: Estudo clínico, controlado e randomizado em pacientes com periodontite crônica*. 2010. 146p. Tese (Doutorado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2010.

AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal*, v.25, n. 4, p. 229-235, 1975.

ARMITAGE, G.C. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v. 34, n. 1, p. 9-21, 2004.

ARMITAGE, G.C. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, v. 53, p. 12-27, 2010.

ANDERSEN, C.C.P.; FLYVBJERG, A.; BUSCHARD, K.; HOLMSTRUP, P. Relationship between periodontitis and diabetes: lessons from rodent studies. *Journal of Periodontology*, v. 78, n. 7, p. 264-275, 2007.

BOTERO, J.E.; YEPES, F.L.; OCHOA, S.P.; HINCAPIE, J.P.; ROLDAN, N.; OSPINA, C.A. *et al.* Effects of periodontal non-surgical therapy plus azithromycin on glycemic control in patients with diabetes: a randomized clinical trial. *Journal of Periodontal Research*, v. 48, n. 6, p. 706-712, 2013.

BRAHAM, P.; HERRON, C.; STREET, C.; DARVEAU, R. Antimicrobial photodynamic therapy may promote periodontal healing through multiple mechanisms. *Journal of Periodontology*, v. 80, n. 11, p. 1790-1798, 2009.

BRITO, L.C.N.; TELES, F.R.F.; TELES, R.P.; TOTOLA, A.H.; VIEIRA, L.Q.; A.P. RIBEIRO SOBRINHO. Lymphocyte and cytokine expression in human inflammatory periapical lesions. *Journal of Endodontics*, v. 38, n. 4, p. 481-485, 2012.

BRITO, L.C.N.; TELES, F.R.F.; TELES, R.P.; NOGUEIRA, P.M.; VIEIRA, L.Q.; A.P. RIBEIRO SOBRINHO. Immunological profile of periapical endodontic infections from HIV - and HIV+ patients. *International Endodontic Journal*, 29 Jul., 2014. doi: 10.1111/iej.12345

CASQUEIRO, J.; CASQUEIRO, J.; ALVES, C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, v. 16, Suppl. 1, p. S27, 2012.

CAMPOS, G. N.; PIMENTEL, S. P.; RIBEIRO, F. V.; CASARIN, R. C.; CIRANO, F. R.; SARACENI, C. H. *et al.* The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. *Lasers in Medical Science*, v. 28, n. 1, p. 317-324, 2013.

CHAN, Y.; LAI, C.H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers in Medical Science*, v. 18, n. 1, p. 51-55, 2003.

CHONDROS, P.; NIKOLIDAKIS, D.; CHRISTODOULIDES, N.; ROSSLER, R.; GUTKNECHT, N.; SCULEAN, A. Photodynamic therapy as adjunct to nonsurgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers in Medical Science*, v. 24, n. 5, p. 681–688, 2009.

CONSORT. *Consolidated Standards of Reporting Trials*. 2010. Disponível em: <<http://www.consort-statement.org/consort-statement/translations/>>. Acesso em: 20 nov. 2010.

CORBELLA, S.; FRANCETTI, L.; TASCHIERI, S.; DE SIENA, F.; DEL FABBRO, M. Effect of periodontal treatment on glycemic control of patients with diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Diabetes Investigation*, v. 4, n. 5, p. 502-509, 2013.

CORREA, F. O.B.; GONÇALVES, D.; FIGUEREDO, C.M.S.; BASTOS, A.S.; GUSTAFSSON, A.; ORRICO, S.R.P. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing levels of interleukin-1 β and proteases in gingival crevicular fluid from patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 79, n.11, p. 2143-2150, 2008.

CORREA, F. O.B.; FIGUEREDO, C.M.S.; GUSTAFSSON, A.; ORRICO, S.R.P. Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 37, n. 1, p. 53-58, 2010.

CUMMINGS, S. R.; GRADY, D. G.; HULLEY, S. B. Delineando um ensaio clínico randomizado cego. In: HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S. R.; BROWNER, W. S.; GRADY, D. G.; HEARST, N. B.; NEWMAN, T. B. *Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica*, 3.ed., Porto Alegre: Artmed, 2008. Cap. 10, p. 165-179.

DARRÉ, L.; VERGNES, J.-N.; GOURDY, P.; SIXOU, M. Efficacy of periodontal treatment on glycaemic control in diabetic patients: A meta-analysis of interventional studies. *Diabetes & Metabolism*, v. 34, n. 5, p. 497–506, 2008.

DUARTE, P.M.; MIRANDA, T.S.; LIMA, J.A.; GONÇALVES, T.E.D.; SANTOS, V.R.; BASTOS, M.F. *et al.* Expression of immune-inflammatory markers in sites of chronic periodontitis in patients with type 2 diabetes. *Journal of Periodontology*, v. 83, n. 4, p. 426-434, 2012.

DUTZAN, N.; VERNAL, R.; HERNANDEZ, M.; DEZEREGA, A.; RIVERA, O.; SILVA, N. *et al.* Levels of interferon-gamma and transcription factor T-bet in progressive periodontal lesions in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 80, n. 2, p. 290-296, 2009.

EBERSOLE, J.L.; DAWSON, D.R.; MORFORD, L.A.; PEYYALA, R.; MILLER, C.S.; GONZALÉZ, O.A. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontology* 2000, v. 62, n. 1, p. 163-202, 2013.

EFIRD, J. Blocked randomization with randomly selected block sizes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 8, n. 1, p. 15-20, 2010.

ENGBRETSON, S.P.; HEY-HADAVI, J.; EHRHARDT, F.J.; HSU, D.; CELENTI, R.S.; GRBIC, J.T. *et al.* Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *Journal of Periodontology*, v. 75, n. 9, p. 1203-1208, 2004.

ENGBRETSON, S.P.; HEY-HADAVI, J. Sub-antimicrobial doxycycline for periodontitis reduces hemoglobin A1c in subjects with type 2 diabetes: a pilot study. *Pharmacology Research*, v. 64, n. 6, p. 624-629, 2011.

ENGBRETSON, S.P.; HYMAN, L.G.; MICHALOWICZ, B.S.; SCHOENFELD, E.R.; GELATO M.C.; HOU, W. *et al.* The effect of nonsurgical periodontal therapy on hemoglobin A1c levels in persons with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *The Journal of American Medical Association*, v. 310, n. 23, p. 2523-2532, 2013.

ESCOBAR, G.F. *Dosagem de IFN- γ , TNF- α e TGF- β no soro e no fluido crevicular gengival de pacientes com periodontite crônica e de pacientes-controle, antes e após tratamento periodontal básico.* 2009. 73p. Dissertação (Mestrado em Patologia Geral) – Universidade Federal do Triângulo mineiro, 2009.

FARIA-ALMEIDA, R.; NAVARRO, A.; BASCONES, A. Clinical and metabolic changes after conventional treatment of type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 7, n. 4, p. 591-598, 2006.

GARLET, G.P.; ARANHA, A.M.F.; SILVEIRA, E.M.; VIEIRA, A.E.; QUEIROZ-JUNIOR, C.M.; MADEIRA, M.F.M. *et al.* The role of chemokines and cytokines in the pathogenesis of periodontal and periapical lesions: Current concepts. 2012. Disponível em: < <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/31361.pdf>>. Acesso em: 18 ago. 2014.

GARLET, G.P.; AVILA-CAMPOS, M.J.; MILANEZI, C.M., FERREIRA, B.R.; SILVA, J.S. Actinobacillus actinomycetemcomitans-induced periodontal disease in mice: patterns of cytokine, chemokine, and chemokine receptor expression and leukocyte migration. *Microbes and Infection*, v. 7, n. 4, p. 738-747, 2005.

GIANNOBILE, W. V. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, v. 79, n.8, p. 1592-1600, 2008.

GE, L.; SHU, R.; LI, Y.; LI, C.; LUO, L.; SONG, Z.; XIE, Y.; LIU, D. Adjunctive Effect of Photodynamic Therapy to Scaling and Root Planing in the Treatment of Chronic Periodontitis. *Photomedicine and Laser Surgery*, v. 29, n. 1, p. 33-37, 2011.

GEMMELL, E.; SEYMOUR, G. J. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000*, v. 35, n. 1, p. 21-41, 2004.

GILOWSKI, Ł.; KONDZIELNIK, P.; WIENCH, R.; PŁOCICA, I.; STROJEK, K.; KRZEMIŃSKI, T. F. Efficacy of short-term adjunctive subantimicrobial dose doxycycline in diabetic patients—randomized study. *Oral diseases*, v. 18, n. 8, p. 763-770, 2012.

GOUTOUDI, P.; DIZA, E.; ARVANITIDOU, M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *Journal of Dentistry*, v. 32, n. 7, p. 511–520, 2004.

GRAVES, D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology*, v. 79, n. 8, p. 1585-1591, 2008.

GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PADRONIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA – A1C. *Atualização sobre hemoglobina glicada (A1c) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais*. Posicionamento oficial, 2009.

HIRST, J. A.; FARMER, A. J.; ALI, R.; ROBERTS, N. W.; STEVENS, R. J. Quantifying the effect of metformin treatment and dose on glycemic control. *Diabetes Care*, v. 35, n. 2, p. 446-454, 2012.

HERNÁNDEZ, M.; VERNAL, R.; SORSA, T.; TERVAHATIALA, T.; MÄTYLÄ, P.; GAMONAL, J. The role of immuno-inflammatory response in the pathogenesis of chronic periodontitis and development of chair-side point of care diagnostics. 2012. Disponível em: <<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/26476.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2014.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *IDF Guideline on oral health for people with diabetes*. Brussels: International Diabetes Federation, 2009.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *IDF Diabetes atlas*. 6.ed. 2013. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas/introduction>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

INZUCCHI, S. E.; BERGENSTAL, R. M.; BUSE, J. B.; DIAMANT, M.; FERRANNINI, E.; NAUCK, M. *et al.* Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, v. 35, n. 6, p. 1364-1379, 2012.

JANKET, S.J.; WIGHTMAN, A.; BAIRD, A.E.; VAN DYKE, T.E.; JONES, J.A. Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? A meta-analysis of intervention studies. *Journal of Dental Research*, v. 84, p. 1154-1159, 2005.

JAVED, F.; QADRI, T.; AHMED, H.B.; AL-HEZAIMI, K.; CORBET, F.E.; ROMANOS, G.E. Is photodynamic therapy with adjunctive non-surgical periodontal therapy effective in the treatment of periodontal disease under immunocompromised conditions? *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, v. 23, n. 10, p. 730-735, 2013.

JONES, J.A.; MILLER, D.R.; WEHLER, C.J.; RICH, S.; KRALL, E.; CHRISTIANSEN, C.L. *et al.* Study design, recruitment, and baseline characteristics: The Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 34, n. 1, p. 40-45, 2007.

KARLSSON, M.R.; LÖFGREN, C.I.D.; JANSSON, H.M. The effect of laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment in subjects with chronic periodontitis: A systematic review. *Journal of Periodontology*, v. 79, n. 11, p. 2021-2028, 2008.

KATAGIRI, S.; NAGASAWA, T.; KOBAYASHI, H.; TAKAMATSU, H.; BHARTI, P.; IZUMIYAMA, H. *et al.* Improvement of glycemic control after periodontal treatment by resolving gingival inflammation in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *Journal of Diabetes Investigation*, v. 3, n.4, p. 402-409, 2012.

KAUR, G.; HOLTFRETER, B.; RATHMANN, W.G.; SCHWAHN, C.; WALLASCHOFSKI, H.; SCHIPF, S. *et al.* Association between type 1 and type 2 diabetes with periodontal disease and tooth loss. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 36, n. 9, p. 765–774, 2009.

KAYAL, R.A. The role of osteoimmunology in periodontal disease. *BioMed Research International*. 2013. Disponível em: <
<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/639368/>>. Acesso em: 01 ago. 2014.

KING, G. L. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *Journal of Periodontology*, v. 79, n. 8, p. 1527-1534, 2008.

KIRAN, M.; ARPAK, N.; ÜNSAL, E.; ERDOGAN, M.F. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 32, n. 3, p. 266-72, 2005.

KORNMAN, K. S. Mapping the pathogenesis of periodontitis: A new look. *Journal of Periodontology*, v. 79, n.8, p. 1560-1568, 2008.

KOROMANTZOS, P.A.; MAKRILAKIS, K.; DEREKA, X.; KATSILAMBROS, N.; VROTSOS, I.A.; MADIANOS, P.N. A randomized, controlled trial on the effect of non-surgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes. Part I: effect on periodontal status and glycaemic control. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 38, n. 2, p. 142-147, 2011.

LAGES, E.J.P. *Aspectos epidemiológicos, microbiológicos e imunológicos da associação entre alcoolismo e periodontite*. 2011. 108p. Tese (Doutorado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

LÖE, H. Periodontal disease: the sixth complication of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, v. 16, n. 1, p. 329-334, 1993.

LUZ, F.A.C.; OLIVEIRA, A.P.L.; BORGES, D.; BRÍGIDO, P.C.; SILVA, M.J.B. *The physiopathological role of il-33: new highlights in bone biology and a proposed role in periodontal disease*. 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/mi/2014/342410/>>. Acesso em: 12 ago. 2014.

MACEDO, G.O. *Efeito da terapia fotodinâmica como adjuvante ao tratamento periodontal não-cirúrgico e na terapia periodontal de suporte diabéticos tipo 2: estudo clínico e laboratorial em humanos*. 2009. 108p. Tese (Doutorado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2009.

MACEDO, G.O.; NOVAES JR., A.B.; SOUZA, S.L.S.; TABA JR., M.; PALIOTO, D.B.; GRISI, M.F.M. Additional effects of aPDT on nonsurgical periodontal treatment with doxycycline in type II diabetes: a randomized, controlled clinical trial. *Lasers in Medical Science*, v. 29, n. 3, p. 881-886, 2014.

MEALEY, B.L.; OATES, T.W. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Journal of Periodontology*, v. 77, n. 8, p. 1289-1303, 2006.

MEALEY, B.L.; OCAMPO, G.L. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontology 2000*, v. 44, n. 1, p. 127-153, 2007.

MEALEY, B.L.; ROSE, L.F. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity*, v. 15, n. 2, p. 135-141, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Indicadores e Dados Básicos. Brasil*. 2012. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabnet.exe?idb2012/g01.def>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

MUNENAGA, Y.; YAMASHINA, T.; TANAKA, J.; NISHIMURA, F. Improvement of glycated hemoglobin in Japanese subjects with type 2 diabetes by resolution of periodontal inflammation using adjunct topical antibiotics: Results from the Hiroshima Study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 100, n. 1, p. 53-60, 2013.

NATHAN, D. M.; BUSE, J. B.; DAVIDSON, M.B.; FERRANNINI, E.; HOLMAN, R. R.; SHERWIN, R. *et al.* Medical Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy - A consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, v. 32, n. 1, p. 193-203, 2009.

NAVARRO-SANCHEZ, A.B.; FARIA-ALMEIDA, R.; BASCONES-MARTINEZ, A. Effect of non-surgical periodontal therapy on clinical and immunological response and glycaemic control in type 2 diabetic patients with moderate periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 34, n. 10, p. 835-843, 2007.

NESSE, W.; LINDE, A.; ABBAS, F.; SPIJKERVET, F.K.; DIJKSTRA, P.U. DE BRABANDER, E.C. *et al.* Dose-response relationship between periodontal inflamed surface area and HbA1c in type 2 diabetics. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 36, n. 4, p. 295-300, 2009.

NÓBREGA, P.B. *Detecção de quimiocinas na saliva de pacientes com periodontite*. 2008. 84p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2008.

O'CONNELL, P.A.; TABA, M.; NOMIZO, A.; FOSS FREITAS, M.C.; SUAID, F.A.; UYEMURA, S.A. *et al.* Effects of periodontal therapy on glycemic control and inflammatory markers. *Journal of Periodontology*, v. 79, n. 5, p. 774–783, 2008.

ODEGAARD, J.I.; RICARDO-GONZALEZ, R.R.; GOFORTH, M.H.; MOREL, C.R.; SUBRAMANIAN, V.; MUKUNDAN, L. *et al.* Macrophage-specific PPAR γ controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature*, v. 447, n. 7148, p. 1116-1120, 2007.

O'RIORDAN, J.; AKILOV, O.E.; HASAN, T. The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 2, n. 4, p. 247-262, 2005.

PAGE, R. C.; EKE, P. I. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 78, n. 7, p. 1387–1399, 2007.

PATEL, M. H.; KUMAR, J. V.; MOSS, M. E. Diabetes and tooth loss An analysis of data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2004. *The Journal of American Dental Association*, v. 144, n.5, p. 478-85, 2013.

PERUSSI, J.R. Inativação fotodinâmica de microorganismos. *Química Nova*, v. 30, n. 4, p. 988-994, 2007.

PRADEEP, A. R.; DAISY, H.; HADGE, P. Serum levels of monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal health and disease. *Cytokine*, v. 47, n.2, p. 77-81, 2009.

PRESHAW, P.M.; TAYLOR, J. J. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *Journal of Clinical Periodontology*, v. 38, n. 11, p. 60-84, 2011.

PRESHAW, P. M.; ALBA, A. L.; HERRERA, D.; JEPSEN, S.; KONSTANTINIDIS, A.; MAKRILAKIS, K. *et al.* Periodontitis and diabetes: A two-way relationship. *Diabetologia*, v. 55, n. 1, p. 21-31, 2012.

PROMSUDTHI, A.; PIMAPANSRI, S.; DEEROCHANAWONG, C.; KANCHANAVASITA, W. The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral Disease*, v. 11, n. 5, p. 293–298, 2005.

REPEKE, C.E.; FERREIRA JR., S.B.; VIEIRA, A.E.; SILVEIRA, E.M.; AVILA-CAMPOS, M.J.; SILVA, J.S. *et al.* Dose-response met-RANTES treatment of

experimental periodontitis: A narrow edge between the disease severity attenuation and infection control. *PLoS ONE*, v. 6, n. 7, e22526, 2011.

RIBEIRO, F.V.; MENDONÇA, A.C.; SANTOS, V.R.; BASTOS, M.F.; FIGUEIREDO, L.C.; DUARTE, P.M. Cytokines and bone-related factors in systemically healthy patients with chronic periodontitis and patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 82, n. 8, p. 1187-1196, 2011.

SAKALLIOĞLU, E.E.; AYAS, B.; LÜTFIOĞLU, M.; KELEŞ, G.C.; AÇIKGÖZ, G.; FIRATLI, E. Gingival levels of monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) in diabetes mellitus and periodontitis:an experimental study in rats. *Clinical Oral Investigation*, v. 12, n. 1, p. 83-89, 2008.

SANTOS, V.R.; LIMA, J.A.; DE MENDONÇA, A.C.; BRAZ MAXIMO, M.B.; FAVERI, M.; DUARTE, P.M. Effectiveness of full-mouth and partial-mouth scaling and root planing in treating chronic periodontitis in subjects with type 2 diabetes. *Journal of Periodontology*, v. 80, n. 8, p. 1237-1245, 2009.

SILVA, R.C. *Avaliação da eficiência fotodinâmica de fotossensibilizadores com aplicação em terapia fotodinâmica*. 2007. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

SILVA, M. J. B.; VIEIRA, L.Q.; RIBEIRO SOBRINHO, A.P. The effects of mineral trioxide aggregates on cytokine production by mouse pulp tissue. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, v. 105, n. 5, p. e70-e76, 2008.

SOBOKU, K.; KIKUCHI, T.; FUJITA, S.; TAKEDA, H.; NARUSE, K.; MATSUBARA, T. *et al.* Altered gene expression in gingival tissues and enhanced bone loss in rats with diabetes with experimental periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 85, n. 3, p. 455-464, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. *Conduta terapêutica no diabetes tipo 2: Algoritmo SBD 2014*. São Paulo: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2014.

SOUSA, G.R. *Análise comparativa por espectroscopia da emissão de luz por led's vermelhos e lasers emitindo no vermelho do espectro eletromagnético na redução de bactérias periodontopatogênicas*. 2007. 119p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

SOUTO, G.R. *Relação de citocinas, quimiocinas e maturação das células dendríticas em indivíduos com periodontite crônica, fumantes e não-fumantes*. 2014. 159p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

SOUTHERLAND, J.H.; TAYLOR, G.W.; OFFENBACHER, S. Diabetes and periodontal infection: making the connection. *Clinical Diabetes*, v. 3, n. 4, p. 171-178, 2005.

TEEUW, W.J.; GERDES, V.E.A.; LOOS, B.G. Effect of Periodontal Treatment on Glycemic Control of Diabetic Patients A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, v. 33, n. 2, p. 21–427, 2010.

TSAI, C.C; KU, C. H.; HO, Y. P.; HO, K. Y.; WU, Y.M.; HUNG C. C. Changes in gingival crevicular fluid interleukin-4 and interferon-gamma in patients with chronic periodontitis before and after periodontal initial therapy. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2007;

TSIAGBE, V.K; FINE, D.H. The impact of bacteria-induced adaptive immune responses in periodontal disease. 2012. Disponível em: <<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/27458.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2014.

VENZA, I.; VISALLI, M.; CUCINOTTA, M.; DE GRAZIA, G.; TETI, D.; VENZA, M. Proinflammatory gene expression at chronic periodontitis and peri-implantitis sites in patients with or without type 2 diabetes. *Journal of Periodontology*, v. 81, n. 1, p. 99-108, 2010.

YAMADA JR., A.M.; HAYEK, R.R.A.; RIBEIRO, M.S. O emprego da terapia fotodinâmica (PDT) na redução bacteriana em periodontia e implantodontia. *Revista Gaúcha de Odontologia*, v. 52, n. 3, p. 207-210, 2004.

YIN, R.; TIANHONG, D.; AVCI, P.; JORGE, A.E.S.; MELO, W.C.M.A.; VECCHIO, D. *et al.* Light based anti-infectives: ultravioleta C irradiation, photodynamic therapy, blue light and beyond. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 13, n. 5, p. 731-762, 2013.

ANEXO A

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Parecer nº. ETIC 0645.0.203.000-10

**Interessado(a): Prof. Allyson Nogueira Moreira
Departamento de Odontologia Restauradora
Faculdade de Odontologia - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 26 de maio de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Efeito da terapia fotodinâmica como coadjuvante ao tratamento periodontal não-cirúrgico sobre o quadro periodontal e controle metabólico em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "M. T. Marques Amaral", is written over a horizontal line.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

APÊNDICE A

Termo de consentimento livre e esclarecido

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações não compreendidas completamente.

Prezado Sr(a), esta pesquisa busca avaliar a influência de um laser como tratamento complementar à raspagem da gengiva.

Para que possamos desenvolver esta pesquisa será necessário que você preencha uma ficha juntamente com um dentista onde algumas perguntas serão feitas com relação às suas características, sua saúde geral e bucal e ainda, serão realizados exames de glicemia, bucais e das bactérias presentes na sua boca, sendo que você receberá tratamento para a doença presente na sua gengiva, na própria universidade, ou, se preferir, em outro local a ser combinado. Estes procedimentos não oferecem riscos somente o desconforto habitual para a coleta de sangue para glicemia e de um tratamento para a gengiva, que pode ser um pouco doloroso, sendo utilizada anestesia local. Suas respostas não influenciarão o seu atendimento no local. Os resultados desta pesquisa serão muito importantes para que possamos melhorar a forma de tratamento da doença gengival beneficiando os pacientes.

Na pesquisa, todos os pacientes receberão o tratamento de gengiva, porém um dos grupos não receberá a aplicação de um laser, mas você não saberá de qual dos grupos faz parte. Este procedimento é comum em pesquisas e não prejudica seu tratamento.

Nós asseguramos que você não será identificado, sendo mantido o sigilo da informação, de modo que seu nome não será citado. Gostaríamos de informar também que se você quiser desistir da pesquisa poderá fazê-lo a qualquer momento, sem prejuízo para a continuidade do tratamento dentário.

Você não vai pagar por nada que está sendo realizado. Se tiver dúvidas, pode entrar em contato com a pesquisadora responsável, através do telefone: XX.XXXX-XXXX ou XX.XXXX-XXXX ou se quiser esclarecer dúvidas com pessoas que não participam do estudo, pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG no telefone 31 3409-4592

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro que fui informado sobre os métodos utilizados no estudo, as inconveniências, riscos e benefícios que podem vir a ocorrer. Declaro que tive tempo suficiente para ler e entender as informações acima. Declaro também que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando também que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade.

Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade e sem reservas para participar como paciente deste estudo.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____.

Assinatura do participante ou representante legal

Atesto que expliquei cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante e/ou seu representante autorizado. Acredito que o participante e/ou seu representante recebeu todas as informações necessárias, que foram fornecidas em uma linguagem adequada e compreensível e que ele/ela compreendeu essa explicação.

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE B

Ficha clínica

Identificação

Nome:			
Sexo:		Est. Civil:	
Prof.:		Nasc.:	idade:
Nacionalidade:		Naturalidade:	
End. Res.			
Fone: ()		Bairro:	
Cidade:		UF:	CEP:

História progressa

Você tomou algum antibiótico nos últimos seis meses?		Faz uso de ácido acetilsalicílico?	
Você fez algum outro tratamento médico ou esteve internado?		Alergia medicamentosa/anestésico?	
		Hábitos e Condições de Vida	
Já fez algum tratamento periodontal (gengiva)? Há quanto tempo?			
Você fuma?		Há quanto tempo?	
Já foi fumante?		Há quanto tempo parou de fumar?	
Ingestão de bebidas alcoólicas?		Frequência:	

História de diabetes mellitus

A quanto tempo tem diabetes?		Frequência de consultas ao endocrinologista	
Antiglicêmico utilizado:		frequência:	dieta?

26											
27											
28											
38											
37											
36											
35											
34											
33											
32											
31											
41											
42											
43											
44											
45											
46											
47											
48											

ÍNDICE DE PLACA

Placa total	Placa %	Condição de higiene

ÍNDICE DE SANGRAMENTO

Nº dentes com sangramento	Nº dentes examinados	ISG

APÊNDICE D**Avaliação metabólica**

Nome: _____

Avaliação controle metabólico

Período	Data da avaliação	HbA1c	Frutosamina
T1			
T2			
T3			
T4			

ARTIGO SUBMETIDO

Submetido ao periódico *International Journal of Dentistry*

IMPACT OF PERIODONTAL THERAPY ON METABOLIC CONTROL IN DIABETICS: A CRITICAL REVIEW

Flávia Isabela Barbosa¹, Milena Maria Moreira Guimarães², Claudia Silami de Magalhães³, Raquel Conceição Ferreira⁴, Audrey Cristina Bueno³, Allyson Nogueira Moreira³.

1 - Post-graduate student, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil. Professor, Itaúna University, Itaúna, MG, Brazil.

2 - PhD, Department of Medical Clinical, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

3 - PhD, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

4 - PhD, Department of Community and Preventive Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

ABSTRACT

Among the systemic risk factors related to periodontal disease, diabetes mellitus occupies a prominent role because it displays a two-way relationship, and periodontal disease has also been associated with loss of glycemic control. Periodontics has sought alternatives that provide effective treatment and have an impact on glycemic control, but these alternatives have often not been clearly described in previous studies because individuals exhibit different degrees of commitment to preventing periodontal disease, thus preventing the ability to measure the real impact of periodontal disease in metabolic control in diabetics. This review aims to assess critically the correlations between the severity and extent of periodontal disease and to propose criteria for the analysis of results in research. A review of the literature was undertaken, in which three meta-analyses revealed impactful studies that were analyzed, and four articles were selected. It was observed that the literature contains studies with heterogeneous results that are not comparable and that lack standardized criteria for case definition and the extent of periodontal disease. Thus, this review proposes a standard for achieving clearer and more specific results, which will be easier to compare with future studies.

KEY WORDS: Diabetes mellitus; Glycated haemoglobin; Glycemic control; Periodontitis.

INTRODUCTION

Periodontal disease is an inflammatory disease that affects the tissues of tooth support and that, during years, had dental plaque as its primary etiologic agent.¹ In recent years, systemic etiologic components may be suspected that can modify the host's response, thus predisposing the patient to developing periodontal disease or increasing the severity of the disease.²

Among the risk factors for periodontal disease, diabetes mellitus occupies a prominent role, as periodontal disease is recognized as the sixth most common complication of diabetes.³

Diabetes is an endocrine disorder characterized by partial or total deficiency in insulin production and/or resistance to insulin's action, thus interfering with the metabolism of carbohydrates, proteins and fats. This interference results in hyperglycemia, which in turn leads to systemic abnormalities, including vascular changes, neutrophil dysfunction and abnormal metabolism of collagen.^{4,5} Thus, diabetes can result in periodontal diseases, particularly in cases of deficiency in diabetes control, in which the response of the periodontium can be more severe.⁶

Infections have been associated with changes in the endocrine-metabolic response of the host with worsening of glycemic control; thus, periodontal disease can exert an influence on metabolic control in diabetes.⁶⁻¹² Periodontal disease has been associated with poor glycemic control and can directly affect it, triggering a state of chronic hyperglycemia.^{6,7,11,13}

Much research has been undertaken to understand this relationship, which works in both directions, and current periodontics continues to search for alternatives to provide effective treatment that also has an effect on glycemic control.

Studies have examined the impact of conventional periodontal treatment with scaling and root planning on glycemic control, which is usually measured by hemoglobin (HbA1c or A1C), although evidence of metabolic improvement after these techniques has been demonstrated.^{6,9,14-17}

Treatments supporting conventional periodontal therapy, such as local and systemic antibiotics, have also been tested to maximize their effects, as they are apparently favorable to glycemic control.¹⁸⁻²⁴ This improvement could be the result of a reduction in inflammatory mediators of periodontal disease, which in turn decrease insulin resistance.⁶

Meta-analyses²⁵⁻²⁷ have evaluated the potential effect of periodontal treatment on the reduction of glucose levels, and these patients have shown reductions in hemoglobin levels after periodontal treatment, but these studies have still been unable to determine whether periodontal treatment significantly benefits glycemic control.

One of the most important factors to consider in this real benefit is related to the seriousness and extent of periodontal inflammation and its impact on glycemic control in diabetics. Patients exhibit varying degrees of periodontal disease, which often lacks clear description in the studies already completed, thus preventing its real impact from being measured.

This study aimed to assess critically the correlations between the severity and extent of periodontal disease and to propose criteria for the analysis of results in research.

METHODOLOGY

A comprehensive review of the literature was conducted with the aid of the PUBMED, LILACS and Scopus electronic databases, employing the following descriptors: "diabetes mellitus," "periodontal disease," "diabetes and periodontal disease," "HbA1c" and "A1C." The results were limited to systematic reviews published over the last 10 years (2001-2011) in the Portuguese, Spanish and English languages. Secondary references were searched from the primary references returned.

The meta-analyses studies were selected, and a survey of these studies was performed. The selected studies based their meta-analysis on publications in the aforementioned languages from the last 10 years that had been conducted in subjects with type 2 diabetes who received nonsurgical periodontal treatment associated or not with coadjuvants.

RESULTS

Three meta-analyses were found²⁵⁻²⁷ with the chosen criteria, and a total of 19 works were initially evaluated. After the exclusions, four articles were selected, and the data related to these selections are expressed in table 1.

The studies were analyzed, primarily identifying their criteria for inclusion, the treatment modalities employed, their definitions of periodontitis and the results, taking into account the evaluation of glycemic control and possible correlations with the number of teeth and the periodontal status of the subjects.

Although four studies demonstrated reductions in A1C levels, the inclusion criteria differed in the selection of individuals according to age, body mass index, sex, duration of diabetes, A1C levels, periodontal status and number of teeth.

The criteria for inclusion related to systemic interference variables were very clear; however, the definition of periodontitis was not very clear in one study¹⁵ and only two studies^{21,24} established a minimum number of teeth present for an individual's inclusion.

All of the studies associated periodontal treatment with the patient's glycemic control, but the subjects were analyzed in groups both for variables and for final correlations.

Of the studies evaluated, it is important to emphasize that there were no specifications in any of them related to the associated numbers of present and diseased teeth/sites.

One study²⁰ noted that patients with worse glycemic control demonstrated greater reductions in A1C compared to patients with moderate control.

DISCUSSION

Initially, a definition of periodontitis should be established. The literature indicates that studies have used their own case definitions for the severity and extent of the disease but with no standardization,³³⁻³⁶ which causes difficulty in interpreting and comparing studies.³⁴

It seems likely that patients with greater numbers of present and diseased teeth/sites and who had the disease would have had proportionately greater numbers of infections. Therefore, in cases of diabetes in which the clinician would want to gauge the effect of the disease and/or periodontal therapy on metabolic control, this assessment might be relevant.

It is assumed that sites with a greater severity and individuals with generalized periodontitis express more infection than sites with less severity and/or located. Consequently, it is important to consider that the extent and severity of periodontal disease could influence the impact of glycemic control in periodontal therapy because the treatment of a broader infectious process could reflect greater benefits to glycemic control.

Although the authors did not mention an association between worse glycemic control and periodontal status (for example, that periodontal disease has been linked to poor glycemic control),^{6,7,11,13} this effect could be partly linked to glycemic control. Thus, it is important to check the patient's periodontal framework carefully to estimate the actual benefit. However, the studies did not demonstrate a clear association between the number of teeth present in subjects with periodontitis and the extent of the disease.

In studies of periodontal disease, it is a commonly held understanding that analyses of clinical parameters are superior to individual analyses; however, because there is not an exact quantification of periodontal inflammation on an individual basis but rather on average, periodontal disease can be under- or over-estimated. In this same sense, it does not seem to be possible to measure the real impact of periodontal therapy on glycemic control when working with group averages because subjects with the minimal criteria for inclusion are not similar to subjects with worse symptoms, so establishing an average and measuring the impacts of such estimates are difficult.

Therefore, to gain a clearer understanding of the effects of the extent and severity of the influence of periodontal disease on glycemic control, there must be a standardization of case definitions, a minimum number of teeth present in the mouth, quantification of the disease and stratification of these parameters for analysis. It has been proposed that periodontitis cannot be evaluated using a single clinical parameter. Although past experience with periodontitis can be seen through bone

loss, the assessment of the disease requires the surveying of additional measurements and/or of bleeding on probing.³⁴

The periodontitis definition by Page and Eke³⁵ adopted by the American Academy of Periodontology (AAP) and Centers for Disease Control and Prevention (CDC) uses two measures (clinical attachment level (CAL) and probing depth (PD) in the interproximal surface (which minimizes errors in attachment loss not caused by periodontitis) at two locations and in different teeth, with PD \geq 5 mm or CAL \geq 4 mm.

With periodontitis, the next step would be to standardize the minimum number of teeth present in the mouth of the patient to be included in scans because it is easier to understand the differences between clinical cases if one subject has, for example, eight teeth present, compared to another with 20 teeth present.

Using this reasoning, it would be rational to include approximately 50% of the third molar teeth and exclude 14 teeth, an average found (but not clearly explained) in several studies of periodontal disease.^{16,37-39}

Finally, considering the extension criteria proposed by Armitage⁴⁰ (extent can be characterized as localized if \leq 30% of the sites are affected and generalized if $>$ 30% of the sites are affected) and the cutoff levels established by Fleming⁴¹ for chronic periodontitis (low - 1 to 10; medium - 11 to 20; or high - more than 20 sites), stratification is proposed.

After this sub-analysis, groups and sub-groups for analysis are suggested in table 2.

Therefore, in data analysis, patients should be stratified according to their different patterns of extension to minimize under- or overestimation of the real impact of periodontal therapy on glycemic control. The authors hope that, with the implementation of this protocol, results will be clearer and will show with greater reliability the impact of therapy on different individuals.

Furthermore, it is suggested that the quantification of periodontal inflammation associated with metabolic control will provide a clearer picture of the relationship between periodontitis and diabetes.²⁷

In the literature, a recent study⁴² presented a method for quantifying the results of the inflammatory process of periodontitis. These authors developed several applications using their method of evaluating the effects of periodontal disease on

systemic conditions. Another study showed that the amount of inflamed periodontium was linked to changes in A1C values.⁴³

These findings reinforce the need to assess differences in periodontitis extent separately from the amount of suffering caused by the disease and to promote a clearer understanding of the real impact of periodontal therapy on glycemic control in diabetics.

CONCLUSION

The literature includes heterogeneous studies with results that are not comparable. In most cases, the criteria for the definition of cases of periodontitis and their extent were not standardized, and both of these factors should be analyzed in relation to different levels of commitment. This study proposes a standardization of both factors, aimed at obtaining clearer and more specific results that are easier to compare with those of other studies and that can be implemented in the future, as this standardization proposal should be validated shortly.

TABLES

Table 1 - Articles selected through meta-analyses

Exclusion/results	Janket et al., 2005²⁵ (n=5)	Darre et al., 2008²⁶ (n=9)	Teeuw et al., 2010²⁷ (n=5)
Not from the last 10 years	Christigau et al., 1998 ³⁰ Grossi et al., 1997 ¹⁹	Aldridge et al., 1995 ¹⁴	
Study in diabetics type 1		Aldridge et al., 1995 ¹⁴	
Non- identified diabetic type		Jones et al., 2007 ²²	Jones et al., 2007 ²²
Surgical treatment/only antibiotics (local/systemic)	Stewart et al., 2001 ²⁸ Iwamoto et al., 2001 ²⁹	Stewart et al., 2001 ²⁸ Yun et al., 2007 ²³	Stewart et al., 2001 ²⁸
Language		Mansouri et al., 2006 ³²	
Unpublished article		Calbacho et al., 2004 ³¹	
Already reviewed			Kiran et al., 2005 ¹⁵ Promsudthi et al., 2005 ²¹
Results (n=4)	Rodrigues et al., 2003 ²⁰	Kiran et al., 2005 ¹⁵ Promsudthi et al., 2005 ²¹	Katagiri et al., 2009 ²⁴

Table 2 - Groups and subgroups suggested for analysis

Extension	Present teeth number	Diseased teeth number	Definition of periodontitis
Localized	14 to 28	2 – 4	Two sites in different teeth with PD \geq 5 mm or CAL \geq 4 mm in >30% of teeth
Generalized	14 to 28	5 – 10	
		11 - 20	
		21 - 28	

REFERENCES

1. Hujoel P, Zina LG, Cunha-Cruz J, Lopez R. Historical perspectives on theories of periodontal disease etiology. *Periodontol 2000*. 2012;58(1):153-60.
2. American Academy of Periodontology. Parameter on periodontitis associated with systemic conditions. *J Periodontol*. 2000;71(5 Suppl):876-9.
3. Løe H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993;16(1):329-34.
4. Nishimura F, Takahashi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. *Ann Periodontol*. 1998; 3(1):20-6.
5. Alves C, Andion J, Brandão M, Menezes R. Pathogenic aspects of the periodontal disease associated to diabetes mellitus. *Arq Bras Endocr Metab*. 2007;51(7):1050-7.
6. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal disease. *J Periodontol*. 2006 ; 77(8):1289-1303.
7. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998 ;3(1):51-61.
8. Soskolne WA. Epidemiological and clinical aspects of periodontal diseases in diabetics. *Ann Periodontol*. 1998 ;3(1):3-12.
9. American Academy of Periodontology. Diabetes and periodontal disease. *J Periodontol 2000 Apr*; 71(4):664-78.
10. Mealey BL. Diabetes and periodontal disease: two sides of a coin. *Comp Contin Educ Dent* 2000; 21(11):189-95.
11. Katz J. Elevated blood glucose levels in patients with severe periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2001;28(7):710-2.
12. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal disease: an epidemiological prospective. *Ann Periodontol*. 2001;6(1):99-112
13. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M. Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes. *Ann Periodontol*. 1998; 3(1):30-9.
14. Aldridge JP, Lester V, Watts TL, Collins A, Viberti G, Wilson RF. Single-blind studies of the effects of improved periodontal health on metabolic control in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. 1995;22(4):271-5.

15. Kiran M, Arpak N, Ünsal E, Erdogan MF. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 2005;32(3):266-72.
16. Santos VR, Lima JA, De Mendonça AC, Braz Maximo MB, Faveri M, Duarte PM. Effectiveness of full-mouth and partial-mouth scaling and root planing in treating chronic periodontitis in subjects with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2009; 80(8):1237-45
17. Shaikh UR, Shirahatti RV. Assessment of the effects of scaling and root planing on blood glucose levels in type II diabetes patients: A pilot study. *J Int Clin Dent Res Organ* 2010; 2(1):20-3..
18. Miller LS, Manwell MA, Newbold D, Reding ME, Rasheed A, Blodgett J *et al.* The relationship between reduct in periodontal inflammation and diabetes control: a report of 9 cases. *J Periodontol.* 1992;63(10):843-8.
19. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG *et al.* Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *J Periodontol.* 1997;68(8):713-9.
20. Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2003;74(9):1361-7.
21. Promsudthi A, Pimapansri S, Deerochanawong C, Kanchanavasita W. The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral Dis.* 2005;11(5):293–8.
22. Jones JA, Miller DR, Wehler CJ, Rich SE, Krall-Kaye EA, McCoy LC *et al.* Does periodontal care improve glycemic control? The department of veterans affairs dental diabetes study. *J Clin Periodontol.* 2007;34(1):46–52.
23. Yun F, Firkova EI, Jun-Qi L, Xun H. Effect of non-surgical periodontal therapy on patients with type 2 diabetes mellitus. *Folia Med.* 2007;49(1-2):32-6.
24. Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Uchimura, I, Izumiyama H, Inagaki K *et al.* Multi-center intervention study on glycohemoglobin (HbA1c) and serum, high-sensitivity CRP (hs-CRP) after local anti-infectious periodontal treatment in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;83(3):308-15.
25. Janket SJ, Wightman A, Baird AE, Van Dyke TE, Jones JA. Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? A meta-analysis of intervention studies. *J Dent Res.* 2005;84(12):1154-9.
26. Darré L, Vergnes JN, Gourdy P, Sixou M. Efficacy of periodontal treatment on glycaemic control in diabetic patients: a meta-analysis of interventional studies. *Diabetes Metab.* 2008;34(5):497–506.

27. Teeuw WJ, Gerdes VEA, Loos BG. Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2010;33(2):421-7.
28. Stewart JE, Wager KA, Friedlander AH, Zadeh HH. The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 2001;28(4):306-10.
29. Iwamoto Y, Nishimura F, Nakagawa M, Sugimoto H, Shikata K, Makino H *et al.* The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2001;72(6):774-8.
30. Christgau M, Palitzsch K-D, Schmalz G, Kreiner U, Frenzel S. Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):112-24.
31. Calbacho V, Carrasco E, Wilckens M, Barboza P, Grant C, Aguirre M *et al.* Evaluation of influence of conventional therapy in diabetics type 2. *J Dent Res.* 2004;84(Spec Iss B) Chilean section: 65739.
32. Mansouri S, Esteghamati A, Yousefi Y. Evaluation of first phase nonsurgical periodontal therapy on diabetes control. *Iran J Diabetes Lipid Disord.* 2006;6(1):193.
33. American Academy of Periodontology. Epidemiology of Periodontal Diseases. *J Periodontol.* 2005;76(8):1406-19.
34. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(Suppl 6):210-3.
35. Page RC, Eke P I. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol.* 2007;78(7):1387-99.
36. Costa FO, Guimarães AN, Cota LO, Pataro AL, Segundo TK, Cortelli SC, Costa JE. Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research. *J Oral Sci.* 2009 ;51(2):199-206.
37. Correa FOB, Gonçalves D, Figueredo,CMS, Gustafsson A, Orrico SRP. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing levels of interleukin-1 β and proteases in gingival crevicular fluid from patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2008;79(11):2143-50.

38. Gonçalves D, Correa FOB, Khalil NM, de Faria Oliveira OMM, Orrico SRP. The effect of non-surgical periodontal therapy on peroxidase activity in diabetic patients: a case–control pilot study. *J Clin Periodontol*. 2008;35(9):799 -806.
39. Correa FOB, Gonçalves D, Figueredo CMS, Bastos AS, Gustafsson A, Orrico SRP. Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*. 2010;37(1):53-8.
40. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):1-6.
41. Fleming TF. Periodontitis. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):32-7.
42. Nesse W, Abbas F, Van der Ploeg I, Spijkervet FK, Dijkstra PU, Vissink A. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol*. 2008;35(8):668-73.
43. Nesse W, Linde A, Abbas F, Spijkervet FK, Dijkstra PU, de Brabander EC *et al*. Dose-response relationship between periodontal inflamed surface area and HbA1c in type 2 diabetics. *J Clin Periodontol*. 2009;36(4):295–300.