

GABRIELA ALESSANDRA DA CRUZ

**RASPAGEM E ALISAMENTO RADICULAR REALIZADO
EM ÚNICA SESSÃO, EM PACIENTES COM DIABETES
MELITO, PORTADORES DE PERIODONTITE CRÔNICA.
AVALIAÇÕES CLÍNICA E LABORATORIAL.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do Título de Doutor em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio de Toledo

Co-Orientador: Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum

PIRACICABA

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8^a. / 6159

C889r Cruz, Gabriela Alessandra.
Raspagem e alisamento radicular realizado em única sessão em pacientes com diabetes melito portadores de periodontite crônica. Avaliações clínica e laboratorial. / Gabriela Alessandra Cruz. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.

Orientadores: Sergio de Toledo, Enilson Antonio Sallum

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Diabetes mellitus. 2. Doença periodontal. 3. Microbiologia. I. Toledo, Sergio de. II. Sallum, Enilson Antonio. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Clinical and laboratorial evaluations of non-surgical periodontal treatment in diabetes mellitus patients.

Palavras-chave em inglês (*Keywords*): 1. Diabetes mellitus. 2. Periodontal disease. 3. Microbiology

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca examinadora: Sergio de Toledo, Julio César Joly, Hercílio Martelli Junior, Marcio Zaffalon Casati, Reginaldo Bruno Gonçalves.

Data da Defesa: 22/01/2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 22 de Janeiro de 2007, considerou a candidata GABRIELA ALESSANDRA E CRUZ aprovada.

PROF. DR. SÉRGIO DE TOLEDO

PROF. DR. JULIO CESAR JOLY

PROF. DR. HERCÍLIO MARTELLI JUNIOR

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

PROF. DR. REGINALDO BRUNO GONÇALVES

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Reginaldo e Terezinha, meus mais sólidos exemplos de vida, de luta, de amor e de caráter. Dedico este trabalho resultado de toda a educação e confiança que depositaram na realização deste sonho.

Ao meu querido noivo Marcio pelo amor, incentivo, apoio e compreensão. Sempre ao meu lado me apoiando e vibrando com as minhas vitórias.

A toda minha família Daniela, Reginaldo Neto, Jenner que compartilharam a realização deste ideal.

AGRADECIMENTOS

A DEUS E A SANTA APOLONIA.

Que me ajudou em todos os momentos, guiando meus passos, mente e coração.

AOS MEUS ORIENTADORES

Ao meu orientador Prof. Dr. Sergio de Toledo, exemplo de paciência, sabedoria e compreensão. Meu profundo agradecimento por sua orientação, incentivo, carinho e amizade.

Ao meu Co-Orientador Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum, pela ajuda e compreensão nos momentos de dificuldade e por toda sua paciência em procurar atender as minhas expectativas durante o curso.

Ao Prof. Dr. José Tadeu Jorge, magnífico reitor da Universidade Estadual de Campinas.

Prof. Dr. Francisco Haiter Neto, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Ao Prof. Dr. Mario Alexandre Coelho Sinhoreti, Coordenador de Pós-Graduação e Prof. Dr. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia, Coordenador do Curso de Pós Graduação em Clínica Odontológica.

Ao Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum pelo incentivo e confiança na realização de projetos; Prof. Dr. Getulio da Rocha Nogueira Filho, pelas aulas sempre estimuladoras ao exercício da ciência; Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Jr. pela presteza em ajudar se disponibilizando nos momentos de dificuldade; Prof. Dr. Marcio Zaffalon Casati pelo auxílio nas atividades clínicas; enfim a todos Professores da Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp, pela participação na minha formação acadêmica.

Ao Professor Ivan da UNESP-SJC e Professora Gláucia da FOP-UNICAMP pela realização da estatística deste trabalho.

A Eliete, secretária da área de Periodontia, pelo convívio e amizade, revelados na presteza e eficiência com que sempre me atendeu.

Aos colegas de turma do Curso de Doutorado, Cleverson, Saulo, Sandro, Marcelo, Bruno, Érica, Daiane e Roberta, e aos colegas que estão no Mestrado, Camile, Mauro, Fabrícia, Renato, Wagner, Daniela, Beatriz, Thais, Liana pelo convívio e amizade que compartilhamos juntos.

Aos colegas da microbiologia Janaina e Sergio que me ajudaram neste estudo.

Aos pacientes sem os quais esse trabalho não seria realizado. Sempre prontos a colaborar tornando-se amigos.

A CAPES pelo apoio financeiro concedido durante o curso de doutorado.

“O sucesso do homem só se evidencia quando seus projetos admitem continuidade”.

Antonio Fernando Martorelli de Lima

RESUMO

O objetivo deste estudo foi a avaliação clínica, hematológica e microbiológica do tratamento periodontal para ambos os grupos após realizar tratamento de raspagem e alisamento radicular em única sessão. Esse trabalho é um estudo prospectivo, paralelo e comparativo realizado em pacientes com doença periodontal crônica generalizada divididos em dois grupos, sendo 10 pacientes com diabetes melito insulino-dependente (DM) e 10 pacientes não diabéticos (NDM) acompanhados por 3 meses. Os dados obtidos nos períodos inicial e final foram divididos em parâmetros clínicos: índice de placa, Índice gengival, nível clínico de inserção, nível da margem gengival e profundidade de sondagem; parâmetros hematológicos: hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, leucócitos, eosinófilos, metamielócitos, segmentados, linfócitos, monócitos, plaquetas, bastonetes, basófilos, glicemia, hemoglobina glicosilada (HbA1c), prova do laço, tempo de coagulação e sangramento e parâmetros microbiológicos, “pool” de bactéria por paciente, para os sítios com PS \geq 5mm e regiões de bifurcação. As amostras foram obtidas com curetas tipo *Gracey* e analisadas através da técnica de reação de polimerase em cadeia – PCR para verificação da freqüência de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannarella forsythensis*. As avaliações clínicas e hematológicas não demonstraram diferenças estatísticas significantes entre grupos NDM e DM nos períodos iniciais e final. A avaliação microbiológica demonstrou diminuição de *Tannarella forsythensis* estatisticamente significativa apenas para o grupo NDM ($p=0,0313$) após 3 meses. Este estudo sugere que os pacientes com DM apresentaram respostas clínica e laboratorial similares ao grupo NDM após a terapia de raspagem e alisamento radicular realizados em única sessão após o período de acompanhamento de 3 meses.

Palavras-chave: Diabetes melito, doença periodontal, microbiologia.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the clinical, hematological and microbiological responses of periodontal treatment for both groups after full-mouth scaling and root planning. This study is a prospective, parallel, comparative, clinical, hematological and microbiological study performed in patients with generalized chronic periodontal disease separated in two groups, with 10 patients with diabetes mellitus insulin-dependent (DM) and 10 patients non-diabetics (NDM) attended by 3 months. The data from baseline and 3 months were separated in clinical parameters, plaque Index, gingival index, clinical attachment level, gingival margin level and probing depth; hematological parameters, red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, leucocytes, eosinophils, metamielocytes, segmented, lymphocytes, monocytes, platelets, bastonets, basophil, glucose, HbA1c, bleeding time and coagulation time and microbiological parameters, pool of bacterial per patients that were obtained from sites with $PD \geq 5\text{mm}$ and furcation sites. The samples were obtained with *Gracey* curettes and analyzed by technical of polymerase chain reaction – PCR, to verify the frequency of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannarella forsythensis*. The clinical and hematological evaluations had no statistics significance changes between groups NDM and DM. The microbiological evaluation showed decrease of *Tannarella forsythensis* statistically significant for only NDM group ($p=0,0313$). This study suggest that diabetes mellitus patients respond to full-mouth scaling and root planning similar to non diabetics patients 3 months after therapy.

KEY WORDS: Diabetes mellitus, periodontal disease, microbiology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1	Diabetes melito	5
2.2	Doença periodontal e Diabetes melito	11
3	PROPOSIÇÃO	18
4	MATERIAL E MÉTODO	19
4.1	Desenho experimental	19
4.2	Seleção da amostra	19
4.3	Critérios de inclusão	19
4.4	Critérios de exclusão	19
4.5	Aspectos éticos da pesquisa	20
4.6	Tratamento Periodontal	20
4.7	Análise microbiológica	21
4.8	Realização do teste de PCR	22
4.8.1	Extração de DNA	22
4.8.2	Reação de PCR	24
4.8.3	Eletroforese	25
4.9	Análise estatística	26
5	RESULTADOS	28
6	DISCUSSÃO	39
7	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

O diabetes melito (DM) é uma doença caracterizada pela alteração na tolerância a glicose e deficiência na metabolização de lipídios e carboidratos (American Academic Periodontology, 2000), ocasionando a clássica tríade de sintomas: poliúria, polidipsia e polifagia (Soskolne & Klinger 2001). A hiperglicemia se desenvolve devido à reduzida secreção e/ou ação da insulina (Mealey & Oates, 2006). Baseada nestas duas condições o diabetes melito pode ser classificada em dois tipos: tipo 1, anteriormente conhecido como pacientes insulino-dependente, os pacientes deste tipo apresentam deficiência de insulina produzida pelas células β do pâncreas e tipo 2, anteriormente conhecidos como não insulino-dependente, este tipo resulta da deficiência na molécula de insulina ou alteração no receptor de superfície celular, ocasionando deficiência na função da insulina (American Academic Periodontology, 2000, Taylor 2001). O diabetes tipo 2 ocorre com maior freqüência em obesos e a tolerância a glicose pode ser controlada com o controle da dieta e do peso (American Academic Periodontology, 2000, Kawamura *et al.* 2001, Aren *et al.* 2003).

A hiperglicemia crônica, ou seja, pacientes com pobre controle de glicemia, apresentam maiores complicações sistêmicas com efeitos importantes sobre os olhos, rins, coração, vasos sangüíneos (American Academic Periodontology, 2000). Essa condição também está associada com aumento da suscetibilidade a infecções bucais, incluindo a periodontite (Taylor *et al.* 1998). Ternovent & Oliver (1993) sugerem que quanto maior o tempo de duração do diabetes maior será a severidade de doença periodontal e a perda de inserção. Esta correlação entre duração do diabetes e perda de inserção periodontal, progressão da destruição com o passar do tempo, é similar para outras complicações como nefropatia, retinopatia e doenças vasculares (Soskolne & Klinger 2001).

Tem sido relatado em estudos epidemiológicos, como *Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III*, nos Estados Unidos, que a prevalência de doença periodontal em pacientes diabéticos é duas vezes maior do que em não

diabéticos (12,5% versus 6,3%). Outros estudos *cross-sectional* com índios Pima também demonstraram maior prevalência de doença periodontal em indivíduos diabéticos tipo 2 quando comparados com não diabéticos (Nelson *et al.* 1990, Emerich *et al.* 1991). Vários estudos que avaliam o Índice de Necessidade de Tratamento Periodontal (CPITN) encontraram maior prevalência e complexidade de tratamento por sextante em pacientes com doença periodontal diabéticos quando comparados ao com doença periodontal não diabéticos (Bacic *et al.* 1988, Katz *et al.* 2001).

Quanto a influência do controle metabólico na prevalência e severidade da doença periodontal, Ternooven & Karjalainen (1997) relataram que pacientes com diabetes tipo 1 pouco controlados apresentam maior prevalência da doença periodontal quando comparados com pacientes diabéticos tipo 2 e não diabéticos e De Pommereau *et al.* (1992) relatam que pacientes diabéticos não controlados apresentam maior severidade da doença periodontal do que pacientes diabéticos controlados. Porém, Noack *et al.* (2000) sugerem que a tolerância à glicose alterada é um fator predisponente ao diabetes melito, mas não é um indicador de risco a doença periodontal.

Os mecanismos que procuram explicar a associação entre diabetes e a doença periodontal sugerem que pacientes diabéticos apresentam redução na função de leucócitos polimorfonucleares e na quimiotaxia, redução da maturação e síntese de colágeno, aumento da atividade de colagenase e formação de produtos finais avançados da glicosilação (*advanced glycation endproducts* (AGEs)), nos quais podem se ligar a receptores de macrófagos e monócitos resultando em aumento da secreção de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina 1 β (IL-1 β) (Lalla *et al.* 2000, Donahue & Wu 2001, Grossi *et al.* 2001). Estes mecanismos sugerem uma alteração na resposta do hospedeiro caracterizada por baixa resistência a infecção, deficiência de cicatrização e resposta inflamatória exagerada. Justificando a destruição periodontal severa e o aumento de perda dental em diabéticos (Lalla *et al.* 2000).

A microflora subgengival de pacientes com doença periodontal e diabéticos é predominantemente formada por Gram-negativos (American Academic Periodontology, 2000) e são poucos os estudos na literatura que associam a presença de microorganismos com a presença de diabetes melito. Sbordone *et al.* (1995) avaliaram a composição do biofilme subgengival em pacientes diabéticos tipo 2 com doença periodontal e pacientes saudáveis. Esses autores concluíram que a composição encontrada é semelhante em ambos os grupos, sendo *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus* e *Porphyromonas gingivalis*, os três tipos de patógenos predominantes em biofilme dental subgengival de pacientes diabéticos tipo 2, também foi encontrado altos níveis de *Prevotella intermedia* para pacientes diabéticos quando comparado a pacientes não diabéticos, a ocorrência de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* foi semelhante para pacientes com periodontite crônica. Outro estudo de Sastrowijoto *et al.* (1989) observaram a porcentagem de streptococos em grupos de pacientes diabéticos e com saúde periodontal e concluíram que houve aumento desse microrganismo após o controle glicêmico dos pacientes diabéticos. Mashimo *et al.* (1983) encontraram maior predominância de espécies de *Capnocytophaga sp* em lesões periodontais de pacientes jovens com diabetes tipo 1 e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em 3 de cada 9 culturas de placa subgengival de pacientes diabéticos, mas não encontraram a presença desse último microrganismo em nenhum sítio com gengivite e saúde periodontal.

Outro aspecto importante desse estudo é a terapia periodontal a ser utilizada, raspagem e alisamento radicular. Jones & O'Leary, (1978) relatam que a instrumentação periodontal é um procedimento terapêutico para o tratamento da doença periodontal inflamatória crônica e tem como objetivo obter uma superfície biologicamente aceitável, através da remoção de depósitos e toxinas bacterianas, cimento e dentina contaminada. No entanto, Quirynen *et al.* (1995) propuseram a terapia periodontal realizada por meio de instrumentação periodontal realizada em uma única sessão, sugerindo benefícios adicionais como redução do número de sessões de raspagem e alisamento radicular e conseqüentemente tempo de

tratamento. Greenstein (2002) comentou os resultados da desinfecção da cavidade bucal (*full mouth disinfection* (FDIS)), desinfecção da cavidade bucal por meio de raspagem e alisamento radicular (*full mouth root planing* (FRP)) e desinfecção da cavidade bucal por meio de raspagem e alisamento radicular dividido em sessões (*partial mouth root planing* (PDIS)). O autor relata que o FDIS consiste na instrumentação periodontal de quatro quadrantes em menos de 24 horas com a associação da terapia com clorexidina (desinfecção de língua, uso de irrigação subgengival e bochecho) proposto por Quirynen *et al.* (1995), a FRP como a instrumentação periodontal realizada em quatro quadrantes em período de 24 horas e a PDIS como a instrumentação periodontal realizada por quadrante individual a cada duas semanas. As terapias de FDIS e FRP têm como objetivo a redução de nichos bacterianos evitando a progressão da doença periodontal. Segundo Greenstein (2002) o uso do adjunto antimicrobiano não promove benefício adicional aos resultados obtidos com as diferentes terapias.

Baseado nestes aspectos, este estudo pretende realizar avaliações clínicas e laboratoriais de pacientes com doença periodontal crônica generalizada, submetidos à terapia periodontal realizada em única sessão, em pacientes com e sem diabetes melito, pois essa modalidade de tratamento possui poucos relatos na literatura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Diabetes melito

O diabetes melito (DM) é uma doença caracterizada por um desequilíbrio metabólico, primeiramente do metabolismo dos carboidratos, caracterizada por hiperglicemia (nível elevado de glicose no sangue), que resulta em defeito de secreção de insulina ou ação alterada da insulina. Os sintomas crônicos de hiperglicemia incluem poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso. A elevação crônica da glicose no sangue esta associada à disfunção e a danos em vários órgãos, especialmente olhos, fígado, rins, coração, nervos e vasos sanguíneos (American Diabetes Association 2006).

A nova classificação do diabetes está baseada na fisiopatologia subjacente nos tipos da doença e não nos tipos de tratamentos. Durante a digestão, a maioria dos alimentos é transformada em glicose, que entra para o sistema circulatório e é usada pelas células para produzir energia e crescimento. A maioria das células necessita de insulina para permitir a entrada da glicose. A insulina liga-se aos receptores celulares para exercer seu efeito. A insulina é produzida pelas células β do pâncreas, e o aumento na secreção de insulina ocorre em resposta à concentração aumentada de glicose no sangue. Com a secreção de insulina para corrente circulatória e sua subsequente ligação aos receptores celulares, a glicose é capaz de sair da corrente circulatória e penetrar nos tecidos, resultando na sua utilização pelas células, com diminuição da concentração de glicose no sangue. A diminuição na produção de insulina ou a ação diminuída da insulina irá alterar o metabolismo da glicose e resultar em hiperglicemia. Ao contrário, a queda do nível de insulina pode causar hipoglicemia.

O excesso de glicose necessário para o corpo, a fim de realizar as atividades diárias, é estocado no fígado na forma de glicogênio. Nos estados de jejum, ou quando a demanda excede a disponibilidade de glicose proveniente dos alimentos, o fígado transforma o glicogênio em moléculas de glicose que são liberadas pelo processo de glicogenólise. O fígado também produz glicose pelo

processo de gliconeogênese – a produção de glicose a partir de fontes que não os carboidratos, como aminoácidos e ácidos graxos. A insulina é o hormônio primário que reduz o nível de glicose no sangue, porém há um grupo de hormônios contra-reguladores (Glucagon, Catecolaminas (epinefrina) hormônio do crescimento, hormônio da tireóide, glicocorticóides (cortisol)) que têm inúmeras funções, mas todas elas promovem a elevação da taxa de glicemia. Quando a função da insulina esta normal, como nos pacientes não diabéticos, o nível elevado da glicose no sangue, resultante da secreção dos hormônios contra-reguladores, é rapidamente normalizado por meio da secreção compensatória de insulina endógena. Entretanto, se a insulina estiver alterada, como no diabético, a elevação do nível de glicose no sangue em resposta a secreção dos hormônios contra-reguladores irá permanecer elevado (American Diabetes Association 2005).

O diagnóstico de diabetes é estabelecido por meio do reconhecimento dos seus sinais e sintomas e da avaliação laboratorial. O método primário usado para o diagnóstico de diabetes melito é a monitoração da glicose no sangue com o paciente em jejum. A American Diabetes Association (2006) define que os níveis glicose em jejum devem ser para paciente normal $\leq 100\text{mg/dl}$ (5.6nmol/l) e o teste de tolerância à glicose oral $\geq 140\text{mg/dl}$ (7.8nmol/l) e para paciente diabético $\geq 126\text{mg/dl}$ (7.0nmol/l) e o teste de tolerância à glicose oral $>200\text{mg/dl}$ (11.1nmol/l) 2h após ingestão de glicose. O teste de glicose no plasma, casual ou em jejum, para tolerância da glicose oral, permite a determinação da glicemia no momento e na hora que a amostra de sangue foi feita, porém não permite a avaliação da glicemia por um período mais extenso. O teste primário para esse propósito é o da glicemia glicosilada (também chamado de teste glicoemoglobina). Este teste mede a quantidade de glicose que se liga à hemoglobina nas células vermelhas. A glicose se liga irreversivelmente à hemoglobina para formar a hemoglobina glicosilada, e se manterá ligada à célula vermelha por todo tempo de vida, que varia de 30 a 90 dias. Quanto mais alto o nível de glicose ao longo do tempo, maior a porcentagem de hemoglobina glicosilada. Dois diferentes testes de

hemoglobina glicosilada estão disponíveis: a hemoglobina A1 (HbA1), normal inferior a 8% e hemoglobina A1c (HbA1c), normal inferior a 6 a 6,5% devido aos diferentes laboratórios e formas distintas dos testes os valores devem ser interpretados no contexto da faixa de valores normais (American Diabetes Association 2006).

De acordo a American Diabetes Association (2006) o diabetes foi classificado em várias formas de acordo com a fisiopatologia e não com a forma de tratamento. As duas formas mais comuns são: diabetes tipo 1, anteriormente chamada diabetes insulino-dependente, e o diabetes tipo 2, previamente conhecida como diabetes não insulino-dependente, pois os pacientes utilizavam-se da injeção de insulina e eram com freqüência confundidos entre os tipos. Outras formas de diabetes podem ocorrer como a gestacional, que ocorre durante a gravidez e geralmente se resolve após o parto, diabetes transitórias devido ao uso de medicamentos e outras relacionadas a defeitos genéticos nas células do pâncreas e síndromes genéticas (American Diabetes Association 2005).

Entre os tipos de diabetes, o tipo 1 é o tipo menos freqüente de diabetes, constituindo 5-10% dos casos de diabetes. O tipo 1 é causado por auto-imunidade mediada por destruição das células β do pâncreas, resultando em deficiência absoluta da insulina, o indivíduo não produz insulina. Vários marcadores estão disponíveis para detectar o risco ou auxiliar no diagnóstico do diabetes tipo 1, incluindo anti-corpos para as ilhotas de células pancreáticas, insulina, ácido glutâmico-descarboxilase e tirosino-fosfatase. Um ou mais desses marcadores podem detectar em 90% dos casos os pacientes com diabetes tipo 1 na hora do diagnóstico inicial, porém alguns pacientes com diabéticos tipo 1 não tem sua etiologia definida (American Diabetes Association 2005, 2006).

O início do diabetes tipo 1 ocorre freqüentemente antes dos 30 anos de idade; por isso, o diabetes tipo 1, já foi conhecido como diabetes juvenil, entretanto, isto pode ser diagnosticado em qualquer idade, quando ocorre o início dos sintomas clínicos. A maioria das pessoas com diabetes tipo 1 tem peso normal e são magros. A ausência de produção de insulina endógena torna os

diabéticos tipo 1 dependentes da insulina exógena (American Diabetes Association 2005, 2006).

O diabetes tipo 2 é o tipo mais comum de diabetes, constituindo 90-95% dos casos. A mais alta prevalência e incidência do diabetes tipo 2 ocorre nos Estados Unidos e é encontrada na população de índios Pima do Arizona, em que quase 50% dos indivíduos entre 30 e 65 anos de idade têm a doença (Nelson *et al* 1990). O diabetes tipo 2 não apenas provoca hiperglicemia, mas também hipertensão, dislipidemia (triglicéres elevado e/ou diminuição de lipoproteínas de alta densidade), obesidade central (abdominal) e aterosclerose. Este grupo de desordens é geralmente chamado “síndrome da resistência à insulina”. O risco de desenvolver esse tipo de diabetes aumenta com a idade, aumento de peso e falta de atividade física, e pode estar associado à predisposição genética. No entanto o estudo da genética desse tipo de diabetes é complexo e ainda não está definido (Nelson *et al* 1990, American Diabetes Association 2005, 2006).

A fisiopatologia do diabetes tipo 2 é diferente do tipo 1. Sua etiologia específica não é conhecida e a destruição auto-imune das células β do pâncreas não ocorre. O diabetes tipo 2 é caracterizado por 3 anormalidades principais: 1) resistência periférica a insulina, particularmente no músculo; 2) secreção deficiente de insulina pancreática; 3) aumento da produção de glicose pelo fígado. O efeito clínico dessas desordens é igual ao tipo 1, denominado hiperglicemia. Embora o pâncreas produza insulina, a presença de resistência a insulina impede o transporte de glicose nas células dos tecidos, causando a hiperglicemia. Existe diferença na fisiopatologia dentro da população de diabéticos tipo 2, geralmente as pessoas são obesas e apresentam estilo de vida sedentária, a idade avançada é um dos fatores de riscos associados (American Diabetes Association 2005, 2006).

O diabetes gestacional pode desenvolver-se durante o primeiro trimestre de gestação. O aumento do diabetes gestacional é visto em mulheres acima do peso, com mais de 25 anos de idade, com história de diabetes na família e são membros de grupos étnicos com níveis mais altos de prevalência de diabetes tipo 2 (afro-americanos, hispânicos e índios americanos). O diabetes gestacional

aumenta significativamente a morbidade perinatal e a mortalidade, assim como aumenta o risco para cesarianas. Após o parto as pacientes com diabetes gestacional são reclassificadas como diabéticas ou normoglicêmicas. (Guthmiller *et al* 2001, American Diabetes Association 2005, 2006).

Outra forma relacionada com a manifestação do diabetes é a presença de alterações no pâncreas, incluindo pancreatites, traumas, infecções, calcificações ou fibroses pancreáticas, pancreatectomias e carcinomas pancreáticos ou com o uso de medicamentos como glucocorticóides. Após longo período de ingestão desses medicamentos o paciente pode começar a manifestar recorrentes episódios de pancreatites e pode desenvolver diabetes tipo 2 devido o uso exagerado de medicamentos. Outros medicamentos como pentamidine que destroem as células β do pâncreas e α -interferon podem favorecer o aparecimento de deficiência severa de insulina. Os pacientes que fazem uso desses medicamentos precisam ser reavaliados quanto ao uso de medicamentos e sua hiperglicemia deve ser tratada adequadamente. Assim como os medicamentos, as alterações hormonais como hormônio do crescimento, cortisol, glucagon, epinefrina, também podem agir com ação antagonista da insulina (American Diabetes Association 2005, 2006).

Além do desequilíbrio no metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios, os pacientes diabéticos podem apresentar complicações micro e macrovasculares. Essas complicações são a maior causa de alta morbidade e mortalidade do diabetes. O paciente diabético tem um risco aumentado para deficiência visual ou cegueira, deficiência renal, amputação das pernas, AVC e infarto do miocárdio. A hipertensão e a dislipidemia também são fatores de risco, para as complicações vasculares (American Diabetes Association 2005)

As complicações relacionadas com o diabetes estão relacionadas com alterações estruturais nos tecidos afetados, como por exemplo alterações no metabolismo de lipoproteínas e na glicosilação não enzimática das proteínas. As propriedades físicas e químicas das membranas são determinadas, em parte, pelos ácidos graxos da membrana bilaminar de fosfolípidos. As alterações no

metabolismo dos lipídios podem provocar efeitos amplos nas funções celulares. A oxidação da LDL nos pacientes hiperglicêmicos pode aumentar o stress oxidativo e induzir a quimiotaxia de monócitos/macrófagos nos tecidos afetados com as paredes dos vasos. Uma vez localizado nos tecidos afetados com as paredes dos vasos, a LDL oxidada pode induzir a alterações na adesão celular, assim como o aumento de fatores quimiotáticos, citocinas e fatores de crescimento. Isto pode levar a um aumento da espessura na parede dos vasos e formação de ateromas e microtrombos nos grandes vasos, alterações na função das células endoteliais e aumento da permeabilidade na microvascularização (Iacopino 2001, Lalla *et al.* 2001).

As alterações relacionadas com a glicosilação de proteínas, lipídios e ácidos nucléicos, podem favorecer espessamento da membrana basal de pequenos vasos da retina, glomérulo, região endoneural e paredes dos grandes vasos devido ao acúmulo de depósitos de carboidratos contendo proteínas plasmáticas. O efeito acumulativo leva ao estreitamento progressivo da luz do vaso e diminuição da perfusão desses órgãos (Lalla *et al.* 2001).

Os carboidratos que contém proteínas sofrem acúmulos nos pacientes com hiperglicemia constante e são conhecidos como produtos finais avançados da glicosilação (AGEs). A formação de AGEs começa com a ligação da glicose com os grupos amino das proteínas para formar uma base Schiffin estável aduzida. Por meio de um rearranjo químico lento, esses produtos são convertidos em glicose-proteína aduzida estável, mais ainda reversível, conhecido como Amadouri produto. Assim, enquanto esses produtos da glicosilação aumentam quando o nível de glicose são elevados, um retorno a glicemia normal resulta na sua reversão e eles não se acumulam nos tecidos. Com a manutenção da hiperglicemia, os Amadouri produtos tornam-se altamente estáveis e formam AGEs. Como os AGEs são irreversíveis, uma vez formados, mantêm se ligados as proteínas por todo período de vida dessas. Assim, mesmo que a glicemia seja corrigida o nível de AGEs nos tecidos afetados não volta ao normal. (Lalla *et al.* 2001, Lammster & Lalla 2001).

O AGE forma, com o colágeno, os principais componentes da matriz extracelular. Uma vez formados, os AGEs causam aumento da ligação cruzada do colágeno, resultando na formação de macromoléculas de colágeno altamente estáveis e resistentes à degradação enzimática normal e as modificações que ocorrem no tecido. Isto causa acúmulo de proteínas nas áreas afetadas. Na parede dos vasos sanguíneos, o AGE formado acumula colágeno, ocorre espessamento da parede do vaso e estreitamento da sua luz. Os receptores para AGEs são conhecidos como RAGE (receptor para AGE) e tem sido identificado na superfícies de células lisas, células endoteliais, neurônios, monócitos/macrófagos. A hiperglicemia resulta em aumento da expressão dos RAGE e a interação AGE/RAGE. O efeito sobre as células endoteliais leva ao aumento da permeabilidade vascular e a formação de trombo. A interação AGE/RAGE nas células musculares lisas promove a proliferação celular dentro da parede da artéria. Assim, as alterações no metabolismo dos lipídios e proteínas, induzida pela hiperglicemia, a longo prazo, característica do diabético, tem um papel importante e fornece uma ligação comum entre todas as complicações clássicas do diabetes (Lalla *et al.* 2001).

2.2 Diabetes melito e Doença Periodontal

Estudos epidemiológicos com grandes populações estabeleceram, claramente que o diabetes é um fator de risco para doença periodontal (Mealey & Oates 2006, Soskolne & Klinger 2001, Papapanou 1996, Grossi *et al.* 1994). De acordo com Taylor *et al.* (1998) a presença de diabetes aumenta a prevalência, incidência e severidade da doença periodontal. Nelson *et al.* (1990) após a análise epidemiológica em índios Pima também observaram que o diabetes é um fator de risco para a doença periodontal, após análise da presença de diabetes e doença periodontal na população, perda de inserção e tolerância à glicose.

As complicações decorrentes de pacientes com diabetes melito e doença periodontal podem ser observados em vários estudos clínicos que avaliaram a

diferença entre ambos os grupos por meio de análise do controle metabólico, índice de placa e sangramento e perda de inserção. Alguns desses estudos seguem descritos abaixo.

Bacic *et al.* (1988) avaliaram 222 pacientes diabéticos e 189 não diabéticos através do CPITN e concluíram que pacientes diabéticos apresentaram maior perda dental e necessidade de tratamento periodontal complexo em relação ao grupo não diabético.

De Pommereau *et al.* (1992) observaram maior inflamação gengival em adolescentes do grupo com diabetes comparado ao controle, sendo que não houve diferença estatística significativa para higiene oral em ambos os grupos.

Nelson *et al.* (1990) avaliaram a população de índios Pima do Arizona, população que apresenta a mais alta prevalência de diabetes tipo 2 no mundo, no período de 1983 a 1989. O objetivo do estudo foi avaliar a incidência de doença periodontal e sua relação com diabetes não insulino-dependente. Os autores avaliaram 2.273 índios e avaliaram a doença periodontal, através do diagnóstico da perda dental e perda óssea em porcentagem em radiografias panorâmicas. A incidência da doença foi determinada para idade e sexo ajustada com a prevalência de doença periodontal. A análise da prevalência e da incidência de doença periodontal foi de 36,3 e 28,9 para o grupo de não diabéticos e 59,6 e 75,7 para o grupo de diabéticos respectivamente.

Emrich *et al.* (1991) estudaram o risco para perda de inserção em 1.342 índios Pima do Arizona e concluíram após análise de risco multivariada que os diabéticos tem um risco de periodontite 2,8 a 3,4 vezes maior que os indivíduos não diabéticos, após ajuste para efeito das variáveis idade, sexo, medidas de higiene oral.

Miller *et al.* (1992) avaliaram o efeito da raspagem e alisamento radicular combinados com o uso sistêmico de doxiciclina (100mg/dia) utilizado por 14 dias, em 9 pacientes diabéticos tipo 1 pouco controlados e com periodontite. Oito semanas após o tratamento, 5 dos pacientes tinham melhorado significativamente o sangramento durante a sondagem e o controle metabólico, indicado pela

redução nos valores de HbA1c, sendo que os quatro pacientes restantes não mostraram melhora do clínica e metabólica. Este estudo de casos sugeriu que a melhora da saúde periodontal pode vir acompanhada da melhora do controle metabólico dos diabéticos. Neste estudo também foi realizada a avaliação microbiológica e foi observado que os pacientes tratados com doxiciclina tiveram maior redução na prevalência de *P. gingivalis* após 3 e 6 meses. Os autores concluíram que o grupo placebo não mostrou alteração significativa dos níveis de HbA1c em nenhum momento do estudo e o grupo tratado com doxiciclina e raspagem subgingival resultou em melhora significativa nos parâmetros metabólicos dos pacientes diabéticos.

Seppälä *et al.* (1993) avaliaram dois grupos de diabéticos insulino-dependentes, sendo 12 pacientes controlados e 26 não controlados por período de 1 e 2 anos. Os autores concluíram que após 2 anos de reavaliação os pacientes não controlados apresentaram mais gengivite e sangramento a sondagem do que os pacientes controlados. Em todos os tempos o grupo de diabéticos não controlados apresentou maior perda de inserção, recessão gengival e perda óssea do que os diabéticos controlados.

Ternoven & Oliver (1993) observaram a associação entre o controle longitudinal do diabetes e a doença periodontal. Foram selecionados 75 pacientes diabéticos tipo 1 e 2 divididos em bem, moderadamente e pobremente controlados. A hemoglobina glicosilada (HbA1c) foi monitorada por período de 2 a 5 anos indicando controle longitudinal do diabetes. Foram observados aumento da severidade, prevalência e extensão da doença periodontal nos pacientes pobremente controlados e quando o cálculo estava presente, a frequência de $PS \geq 4$ mm aumentou em 6% em pacientes bem controlados e 16% nos diabéticos pouco controlados. Os autores concluíram, que os pacientes devem ser inseridos em programa de higiene oral, incluindo motivação e instrução de higiene oral, bem como remoção profissional de placa.

Bridges *et al.* (1996) avaliaram a doença periodontal em 118 pacientes diabéticos e 115 não diabéticos por meio de análise do índice de placa, índice

gingival, profundidade de sondagem, perda de inserção e número de dentes perdidos. Para os pacientes diabéticos foram avaliados a tolerância de glicose e a hemoglobina. Os autores encontraram índices de placa e gengival, profundidade de sondagem e perda de inserção e número de dentes perdidos estatisticamente significante maior para pacientes diabéticos. Não houve correlação significativa entre a condição periodontal e a glicose plasmática e hemoglobina.

Karjalainen & Knuutila (1996) avaliaram o sangramento gengival a sondagem e a higiene oral de dois grupos de crianças e adolescentes com diabetes insulino-dependente. No primeiro grupo as crianças foram examinadas no terceiro dia após serem hospitalizadas e após 2 e 6 semanas do início do tratamento com insulina, o HbA1c foi controlado e outro grupo de diabetes-insulino dependentes também foi examinado de acordo como grupo acima após serem hospitalizados, esse grupo apresentava média de 6 anos de uso de insulina e pacientes não controlados. Os resultados encontrados demonstram que o grupo com hiperglicemia apresentou maior sangramento gengival que o grupo com glicemia controlada, sendo que não houve diferença para o índice de placa em ambos os grupos, demonstrando que a falta de controle metabólico predispõe ao sangramento gengival.

Westfelt *et al.* (1996) analisaram a freqüência de doença periodontal em pacientes diabéticos durante 5 anos de monitoramento. Foram avaliados 20 pacientes com diabetes tipo 1 e 2 e 20 pacientes não diabéticos. O tratamento periodontal realizado foi controle de placa, raspagem supra e subgengival, reavaliação após 3 meses e retalho de Widman modificado nos sítios com doença recorrente. As avaliações foram nos períodos inicial, 3, 6, 12, 24 e 60 meses. Os autores concluíram que ambos os grupos mantiveram saúde periodontal durante 5 anos e que a freqüência de sítios com recorrência da doença periodontal foi semelhante para os dois grupos.

Ternoven & Karjalainen (1997) analisaram a resposta do tratamento periodontal e higiene oral de 36 pacientes com diabetes tipo 1 e 10 sem diabetes por período de 4 semanas, 6 e 12 meses. O grupo de diabéticos foi dividido em 3

subgrupos, controle metabólico sem complicações, controle metabólico com e sem retinopatia, diabetes severa (longo período de descontrole glicêmico e complicações). Foram realizadas avaliações sobre placa, cálculo, profundidade de sondagem, sangramento após sondagem e perda de inserção. Os resultados encontrados demonstram que não houve diferença estatística significativa para o índice de placa e o grupo com diabetes severa apresentou maior complicação periodontal.

Taylor *et al.* (1998) demonstraram que os diabéticos tipo 2 aumentaram significativamente o índice de progressão de perda óssea alveolar, no período de 2 anos, quando comparado com os não diabéticos. O risco de perda óssea alveolar progressiva foi 4,2 vezes maior nos diabéticos, com risco mais acentuado entre os indivíduos com menos de 34 anos.

Christgau *et al.* (1998) realizaram monitoramento, clínico, microbiológico, médico e imunológico de 20 pacientes diabéticos e 13 não diabéticos 4 meses após tratamento periodontal. Os autores concluíram que houve diferença estatística significativa para os parâmetros clínicos avaliados entre diabéticos e não diabéticos, redução similar do número de periodontopatógenos e nenhuma diferença para resposta de neutrófilos polimórfonucleares (PMN). Os autores concluíram que pacientes diabéticos bem controlados podem responder a terapia periodontal não cirúrgica de forma similar a pacientes saudáveis.

Moore *et al.* (1999) avaliaram por 2 anos a doença periodontal em 320 pacientes com diabetes tipo 1. Foram avaliados o comportamento de higiene oral, perda dental, cáries radiculares e coronárias, função salivar e parâmetros clínicos periodontais, como cálculo, sangramento gengival, perda de inserção. Foram encontradas associações para a presença de cálculo e sangramento constante para idade. Análise de multivariância indicou aumento da perda de inserção associada à idade avançada. Doença periodontal severa para pacientes diabéticos insulino-dependentes fumantes.

Katz *et al.* (2000) analisaram a possível interação entre nível de glicose no sangue e doença periodontal. Foi realizado estudo prospectivo com 10.590

homens e mulheres do serviço militar, sendo a condição periodontal avaliada por CPITN e glicose pelo teste de tolerância a glicose. O efeito de sexo, índice de massa corpórea e o fumo foram avaliados. Os resultados encontrados mostraram associação significativa entre glicose e doença periodontal severa em homens e alta massa corpórea. O fumo não influenciou o nível de glicose.

Noack *et al.* (2000) avaliaram a predisposição para alteração do controle metabólico como diabetes (pacientes com ausência de diagnóstico de diabetes) e hiperlipidemia poderem atuar como fator de risco para a doença periodontal. 100 pacientes foram avaliados pelo teste de tolerância glicose, mas apenas 56 manifestaram diabetes, 17 pacientes com hiperlipidemia e 27 com controle metabólico normal. Foram avaliados índice de placa, sangramento a sondagem, profundidade de sondagem, perda de inserção e títulos de anticorpos para *A.actinomycescomitans*, *P. intermédia* e *P. gingivalis* determinados por ELISA. Os resultados encontrados sugerem que o descontrole da glicose é um fator predisponente para diabetes melito, mas não é um indicador de risco para doença periodontal, porém o metabolismo de lipídios parece ser um indicador de risco para doença periodontal.

Kawamura *et al.* (2001) observaram fatores comportamentais relacionados com a saúde geral, controle da dieta, dieta regular, controle metabólico e com a saúde bucal, acúmulo de placa, cálculo, profundidade de sondagem em 102 pacientes com diabetes tipo 2. Os autores sugerem que a severidade do diabetes e doença periodontal parece estar indiretamente ligada aos cuidados com a saúde geral, dieta, e cuidados com a higiene oral.

Guthmiller *et al.* (2001) avaliaram a condição gengival de pacientes gestantes diabéticas insulino-dependentes comparando-as com pacientes não diabéticas. Os autores concluíram que as pacientes diabéticas apresentaram maior índice gengival, profundidade de sondagem e posicionamento apical da margem gengival em relação as pacientes não diabéticas.

Aren *et al.* (2003) estudaram três grupos de crianças: 16 com diabetes tipo 2, 16 com diabetes tipo 1 e 16 saudáveis. Os autores concluíram que o nível de

glicose era maior para o grupo com diabetes, a capacidade do pH da saliva era menor para pacientes diabéticos e que o índice de placa foi maior para diabéticos do tipo 1 do que para tipo 2 e ambos maior que o controle. Sendo a profundidade de sondagem semelhante para todos os grupos. O índice gengival foi maior para os pacientes com diabetes tipo 2.

Rodrigues *et al.* (2003) monitoraram o efeito do tratamento periodontal não cirúrgico sobre o controle da glicemia em pacientes com diabetes melito tipo 2. 30 pacientes com doença periodontal foram divididos em dois grupos, grupo 1 recebeu raspagem e alisamento radicular boca toda associado a amoxicilina/875mg ácido clavulânico e grupo 2 recebeu apenas raspagem e alisamento radicular boca toda. Os parâmetros clínicos, glicose e HbA1c foram avaliados no início e após 3 meses. Não foi observado diferença estatisticamente significativa entre os grupos para o nível clínico de inserção após 3 meses, houve redução de HbA1c em ambos os grupos, sendo apenas estatisticamente significativa para o grupo que recebeu raspagem e alisamento radicular sem uso de antibióticoterapia.

Faria-Almeida *et al.* (2006) avaliaram a resposta do tratamento periodontal convencional em pacientes com e sem diabetes melito tipo 2 a partir do controle clínico e metabólico por períodos de 3 e 6 meses. Os autores compararam índice de placa, índice gengival, perda de inserção, nível da margem gengival e a resposta clínica para HbA1c e glicose nos grupos com e sem diabetes. Os autores concluíram que ambos os grupos encontraram melhoras dos parâmetros periodontais após o tratamento periodontal convencional e que houve melhora do controle metabólico após o tratamento periodontal.

Schara *et al.* (2006) avaliaram a terapia periodontal mecânica realizada na boca toda em uma única sessão no período inicial 3 e 6 meses e o controle metabólico de pacientes diabéticos tipo 1 com pobre controle metabólico. Os autores concluíram que este protocolo pode ser aplicado a cada 3 meses para controle da doença periodontal e glicêmico do paciente com diabetes tipo 1.

3 PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi realizar avaliações clínica, hematológica e microbiológica de pacientes com e sem diabetes melito tipo 2 portadores de doença periodontal crônica submetidos a tratamento de raspagem e alisamento radicular realizados em única sessão após acompanhamento de 3 meses.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Desenho experimental

Trata-se de estudo prospectivo, paralelo, comparativo realizado em duas populações de indivíduos com doença periodontal crônica generalizada. O período do estudo foi de 3 meses constando de exame inicial e final para obtenção de todos os parâmetros.

4.2 Seleção da amostra

Foram selecionados 20 pacientes com doença periodontal crônica generalizada, divididos em dois grupos, 10 pacientes com diabetes melito insulino-dependentes tipo 2 (DM) e 10 pacientes sem alterações sistêmicas (NDM). Todos os pacientes foram obtidos durante o processo de triagem na Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Inicialmente, os voluntários foram submetidos ao exame clínico para identificar condições que os elegessem ou impedissem de participar do estudo. A seguir, após a seleção dos pacientes, foram selecionados sítios com doença periodontal, exceto em regiões de terceiros molares, para a realização do tratamento periodontal composto de raspagem e alisamento radicular supra e subgengival realizados em única sessão.

4.3 Critérios de Inclusão

De acordo com os critérios de inclusão estabelecidos poderiam participar do estudo pacientes com diagnóstico de periodontite crônica generalizada, com ou sem diabetes melito tipo 2, insulino-dependentes, como condição **única** de modificação da resposta periodontal frente ao biofilme dental bacteriano.

4.4 Critérios de Exclusão

Foram excluídos pacientes: gestantes, lactantes, fumantes, alcoólatras, imunodeprimidos, com alterações hormonais, estresse físico/emocional e que estivessem fazendo uso de medicamentos que interferissem com os tecidos

periodontais e/ou que tenham recebido tratamento periodontal nos últimos seis meses anteriores ao procedimento.

4.5 Aspectos Éticos da Pesquisa

Os voluntários desta pesquisa foram tratados de acordo com a resolução CNS 196/96 e com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, projeto aprovado sob número 119/2006 (Anexo 1). Os voluntários receberam todas as informações referentes ao estudo e, se de acordo, assinaram o consentimento livre e esclarecido.

4.6 Tratamento periodontal

Todos os pacientes foram submetidos a exame clínico, radiográfico, hematológico e microbiológico.

Após a triagem dos pacientes, foi solicitado exame radiográfico periapical completo, realizado na área de Radiologia Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

A seguir, todos os pacientes foram submetidos à avaliação hematológica no laboratório de Análise Clínica da Prefeitura Municipal de Piracicaba. Para análise hematológica foram solicitados exames de hemograma, coagulograma, glicemia em jejum para todos os pacientes e a hemoglobina glicosilada foi solicitada apenas para os pacientes diabéticos. Esses exames foram solicitados de acordo com o controle médico realizado pelos pacientes diabéticos.

Após o exame hematológico foi realizado exame clínico na Clínica de Especialização em Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Esse exame foi composto de anamnese, foram obtidos os dados cadastrais, dados referente ao perfil do paciente como: idade, tempo de diabetes, tempo de consumo de insulina e quantidade de consumo de insulina diária e avaliações dos parâmetros clínicos foram realizadas com o uso de sonda manual (PCP 15, Hu-Friedy, Chicago, IL) para obtenção do: Índice de Placa (IP) (Ainamo & Bay 1975),

Índice gengival (IG) (Ainamo & Bay 1975), Profundidade de Sondagem (PS), Nível da Margem Gengival (NMG) e Nível Clínico de Inserção (NCI).

A seguir, foram selecionados sítios para o tratamento periodontal subgengival. Esses sítios foram isolados, secos e a placa supragengival removida com gaze. Os sítios selecionados para o tratamento periodontal foram divididos de acordo com profundidade de sondagem ≥ 5 mm, em dentes unirradiculares e sítios com bifurcações, em dentes multirradiculares e coletas foram realizadas de amostras do biofilme subgengival com auxílio curetas 5/6, 7/8, 11/12, 13/14 tipo *Gracey*. Posteriormente as coletas, foram realizadas raspagens e alisamento radicular supra e subgengival em única sessão de todos os sítios com os mesmos instrumentais. A sensibilidade foi controlada com anestesia por infiltração local ou bloqueio regional (Lidocaína DFL Industria e Comércio Ltda, Brasil).

Após a terapia periodontal os pacientes foram instruídos quanto à higiene oral, ou seja, foram indicados os tipos de escova que eles deveriam adquirir (escovas macia, interdental e bitufo), e a realização da técnica de escovação de Bass modificada. Todos os pacientes foram instruídos quanto ao uso de fio dental e raspador de língua. Os pacientes utilizaram somente técnica manual para escovação e não utilizaram nenhuma solução de bochecho durante o estudo.

Todos os pacientes diabéticos foram atendidos em horários matinais, após 2 horas do consumo de insulina.

Todos os parâmetros foram avaliados no período inicial e 3 meses. Após o tratamento inicial todos os pacientes foram incluídos em programa de higiene oral com visitas regulares a cada duas semanas para coleta de IP e IG até completarem 3 meses. As avaliações hematológicas foram realizadas previamente ao tratamento periodontal no período inicial e final.

4.8 Análise Microbiológica

Após as coletas, as amostras subgengivais foram numeradas de acordo com o seguinte critério: a) paciente, b) tempo inicial e final, c) “pool” de biofilme dental

subgengival por profundidade de sondagem ≥ 5 mm ou região de bifurcação. As amostras obtidas foram imediatamente ressuspensas em 500 μ l de RTF.

Todas as amostras subgengivais foram processadas no laboratório da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

A Reação em cadeia da polimerase (PCR) (Slots *et al.* 1995) foi realizada em segundo momento, a mesma trata-se de uma avaliação molecular para identificar através do DNA bacteriano, microrganismos específicos, periodontopatógenos como *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythensis* e *P. gingivalis*, que foram selecionados para esse estudo para avaliar a presença dos mesmos e compatibilidade com a saúde dos tecidos periodontais. Todas as coletas do biofilme dental subgengival foram obtidas nos períodos inicial e 3 meses e foram devidamente congeladas para posterior análise. O número total de coletas foram 2 por paciente em dois períodos inicial e 3 meses, perfazendo um total de 40 para cada período e 80 amostras no total. Foram feitas 240 análises para verificar a presença e freqüência dos três microrganismos.

4.8 Realização do teste de PCR

O teste de PCR foi realizado nos períodos inicial e 3 meses. A técnica foi utilizada com o objetivo de detectar *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythensis* e *P. gingivalis* através da amplificação de uma seqüência específica de DNA. Os “primers” (Invitrogen/ Life Technologies do Brasil Ltda.) foram sintetizados segundo as seqüências propostas por Benkirane *et al.* (1995), Slots *et al.* (1995) e Ashimoto *et al.* (1996), descritas no Quadro 1.

Primeiramente foi realizada a extração do DNA das amostras previamente coletadas nos períodos das devidas avaliações.

4.8.1 Extração do DNA

Foram realizadas extrações de DNA de todas as amostras através do método adaptado de Doyle & Doyle (1990). De acordo com o protocolo a seguir:

1. Preparo do material: Para a amostra clínica foi realizada: agitação mecânica, centrifugação (10 minutos/ 10000 rpm), seguida de remoção do sobrenadante;
2. Tampão de extração com proteinase K foi adicionada à amostra numa alíquota de 700 μ l, a mesma foi agitada e deixada em banho Maria por 30 minutos, sendo homogeneizada suavemente a cada dez minutos;
3. Clorofórmio/ álcool isoamílico (CIA) foi adicionado (600 μ l), homogeneizado até formar uma emulsão. Após a amostra será centrifugada a 12000 rpm por sete minutos;
4. Tampão de extração sem proteinase K: a fase aquosa formada com a adição de CIA será transferida para novo tubo *ependorf* de 1,5 mL e 200 μ l de tampão de extração sem proteinase K;
5. Em seguida, adicionou-se 650 μ l de CIA e centrifuga a 12000rpm por sete minutos. Novamente a fase aquosa formada foi transferido para outro *ependorf* . A adição de CIA será repetida por mais uma ou duas vezes, até a obtenção de uma fase aquosa transparente e límpida;
6. Precipitação do DNA: após se obter a fase aquosa transparente e límpida, precipitou-se o DNA com adição de 500 μ l de álcool isopropílico a temperatura ambiente;
7. Removeu-se o álcool isopropílico e 50 μ l de álcool etílico a 70% foi adicionado para lavar a superfície do DNA precipitado, sem ressuspender. Novamente o precipitado foi centrifugado, seguido da remoção do etanol;
8. Terminada a lavagem, o tubo de *ependorf* foi deixado aberto ao lado de um bico de Bussen até a secagem do precipitado;
9. Para finalizar, o DNA foi ressuspendido em 50 μ l de Tris-EDTA (pH 8,0) com

RNAse.

A concentração de DNA foi calculada medindo a absorvância a 260nm e a qualidade do DNA isolado foi estimada pela razão A_{260}/A_{280} .

Géis de qualidade foram realizados ao longo de todo estudo, com o objetivo de verificar a presença de DNA no material analisado (amostras).

Uma reação inicial de PCR foi realizada para detectar a presença de eubactéria através do uso de “*primers*” universal do gene 16S (QUADRO 1). Dentro das seguintes condições para detecção:

- *Universal 16S* para detecção de eubactéria (Weisburg *et al.* 1991): primeiramente um passo de desnaturação a 94°C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 2 minutos e um passo final de alongamento a 72°C por 10 minutos.

4.8.2 Reação de PCR

Para a reação de PCR foi processado 50µl de uma mistura de reagentes contendo 36,25µL de água deionizada bi-destilada, 5µL de solução tampão (10X Reaction Buffer, INVITROGEN®/ Life Technology do Brasil), 2,5mM de MgCl₂, 1mM de cada dNTP (DNA Polimerization Mix - INVITROGEN®/ Life Technology do Brasil), 1,5µl de cada “*primer*”, 2,5U (0,25µl) de Taq DNA Polymerase (INVITROGEN®/ Life Technology do Brasil). Estes tubos foram submetidos a um agitador por 5 segundos para homogeneização e, em seguida foi adicionada a mistura de reagentes a uma alíquota de 5,0µl da amostra clínica (DNA extraído). Além das amostras, foram utilizados controles positivos das amostras de DNA genômico purificado de detectar *A. actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *T. forsythensis* (ATCC 43037), e *P. gingivalis* (ATCC 33277) e negativo (água bi-destilada e deionizada) em cada experimento. Em seguida, esta mistura reagente foi

submetida a um aparelho termociclador convencional (GeneAmp PCR System 2400 – Perkin Elmer, Applied Biosystems, Syngapore) de acordo com a seguinte programação para cada uma das bactérias selecionadas:

A. actinomycetemcomitans: A reação iniciou-se com a desnaturação do DNA a 95°C por 2 min, seguida de 36 ciclos – fase de desnaturação a 94°C por 30 segundos, fase de hibridização dos “*primers*” 55°C por 1 minuto, e fase de extensão a 72°C por 2min – finalizando a reação a 72°C por 10 minutos (Ashimoto *et al.* 1996).

T. forsythensis: A reação iniciou-se com a desnaturação do DNA a 95°C por 2 min, seguida de 36 ciclos – fase de desnaturação a 95°C por 30 segundos, fase de hibridização dos “*primers*” 60°C por 1 minuto, e fase de extensão a 72°C por 1min – finalizando a reação a 72°C por 2 minutos (Slots *et al.* 1995).

P. gingivalis: A reação iniciou-se com a desnaturação do DNA a 94°C por 5 min, seguida de 30 ciclos – fase de desnaturação a 94°C por 1 min, fase de hibridização dos “*primers*” 70°C por 1 minuto, e fase de extensão a 72°C por 1 min – finalizando a reação a 72°C por 2 minutos (Benkirane *et al.* 1995).

4.8.3 Eletroforese

As amostras, após a reação de PCR (produtos de amplificação), foram conservadas a 4°C ou analisadas imediatamente por eletroforese em gel de agarose a 1% (INVITROGEN®/ Life Technology do Brasil) em tampão Tris-borato-EDTA (pH 8,0). Foi incluído em cada gel, um padrão de peso molecular de 100pb (DNA ladder, INVITROGEN®/ Life Technology do Brasil). Após o término de cada corrida (60 volts/1 hora), o gel foi corado com brometo de etídio (5µg/mL- INVITROGEN®/ Life Technology do Brasil) e as bandas foram observadas com auxílio de um transluminador de luz ultravioleta (Pharmacia LKB – MacroVue). A documentação fotográfica dos géis foi obtida com o Sistema Image Máster – VDS

(Pharmacia Biotech) e a captura das imagens foram realizadas pelo programa computacional LISCAP.

Quadro 1 - *Primers* que foram utilizados para identificação das diferentes espécies bacterianas:

ESPÉCIE	SEQUENCIA (SUPERIOR/INFERIOR)
<i>Primer universal 16S</i> Para verificação de presença de DNA bacteriano nas amostras clínicas	5'AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3' 5'AAG GAG GTG ATC CAG CC 3'
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> 557pb (Ashimoto <i>et al.</i> 1996)	5'AAA CCC ATC TCT GAC TTC TTC TTC 3' 5'ATG CCA ACT TGA CGT TA AT 3'
<i>Tannarella forsythensis</i> 641pb (Slots <i>et al.</i> 1995)	5'GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA 3' 5'TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T3'
<i>Porphyromonas gingivalis</i> 593pb (Benkirane <i>et al.</i> 1995)	5'AAT CGT AAC GGG CGA CAC AC 3' 5'GGG TTG CTC CTT CAT CAT AC 3'

4.9 Análise Estatística

Inicialmente foi realizada análise descritiva dos dados (média e desvio padrão) para os grupos Diabetes Melito e não diabéticos nos tempos inicial e 3 meses. Após análise exploratória dos dados usando o PROC LAB do programa estatístico SAS (Institute Inc., Cary, NC, USA, Versão 9.1, 2003) o qual indicou a transformação logarítmica para a variável IG. Foi, então, realizada análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas para comparar grupos (DM e NDM), nos tempos (inicial e 3 meses) e a interação entre eles para as variáveis, índice de placa, índice gengival, nível clínico de inserção, profundidade de sondagem, nível da margem gengival, hemácias, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, leucócitos, linfócitos, eosinófilos, metamielócitos, segmentados, monócitos, plaquetas, TC e TS. Para as variáveis que não atenderam as pressuposições da análise paramétrica (basófilo, bastonetes e glicemia) foram realizados testes de

Mann Whitney para os grupos DM e NDM e Wilcoxon para comparação dos tempos inicial e 3 meses.

A análise da frequência de bactérias foi realizada de acordo com os sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm e sítios com bifurcações nos grupos diabetes melito (DM) e não diabéticos (NDM), entre os períodos inicial e final pelo teste exato de Fisher obtido pelo programa Minitab (Versão 14,12 <http://www.minitab.com>) e comparação entre a presença e ausência de bactérias entre os tempos inicial e final pelo teste Mec Nemar obtido pelo programa MedCalc (Versão8,1, <http://www.medcalc.be>). Todos os parâmetros analisados consideraram o nível de significância $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os resultados encontrados estão apresentados nos gráficos e tabelas abaixo.

Tabela 1: Média e Desvio Padrão das variáveis que caracterizam o perfil dos pacientes não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM).

Variáveis	NDM	DM	<i>p</i>
Idade (anos)	45,60 (7,64)	47,10 (13,01)	0,7570
Sítios com PS \geq 5mm (n)	20,1 (7,24)	33,6 (15,7)	
Sítios com bifurcações (n)	4,4 (2,75)	5,4 (6,13)	
Total de sítios (n)	102 (10,02)	93,2 (18,4)	
Tempo de Diabetes (anos)		18,10 (11,37)	
Tempo de consumo de Insulina (anos)		7,80 (6,72)	
Quantidade de Insulina Diária (U.I.)		33,40 (16,09)	

Teste "t" Student para idade, nível de diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Na tabela 1, os dados estão apresentados em média e desvio padrão e caracterizam o perfil dos pacientes selecionados para o estudo; a idade não apresentou diferença estatística significativa ($P=0,7570$; teste "t" *Student* pareado). Para as outras variáveis, número de sítios com PS \geq 5mm, números de sítios com bifurcações e número total de sítios presente por paciente, foram obtidos apenas média e desvio padrão. Também foram obtidos, média e desvio padrão para as variáveis específicas do grupo com DM (Tempo de Diabetes, tempo de consumo de Insulina e a Quantidade de Insulina Diária).

Os resultados dos exames de hemograma podem ser observados nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Média e Desvio Padrão para Hemácias, hemoglobina, hematócrito, V.C.M., H.C.M., C.H.C.M., leucócitos, eosinófilos, metamielócitos, segmentados, linfócitos, monócitos, plaquetas para pacientes não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses.

Variáveis	Tempo	Média (DP) NDM	Média (DP) DM
Hemácias Mil/mm ³	0	4,49 (0,33) Aa	4,81 (0,39) Aa
	3 meses	4,6 (0,33) Aa	4,88 (0,4) Aa
Hemoglobina G%	0	12,72 (1,45) Aa	13,37 (1,17) Aa
	3 meses	13,03 (1,36) Aa	13,8 (1,14) Aa
Hematócrito %	0	38,03 (3,44) Aa	39,61 (4,05) Aa
	3 meses	39,9 (3,69) Ab	41,49 (3,03) Ab
V.C.M.	0	88,54 (5,92) Aa	83,45 (6,93) Aa

Um ³	3 meses	85,94 (7,25) Ab	85,08 (5,97) Ab
H.C.M	0	28,37 (2,74) Aa	27,98 (2,61) Aa
PG	3 meses	28,27 (2,57) Aa	28,4 (2,54) Aa
C.H.C.M.	0	33,28 (1,54) Aa	33,49 (0,85) Aa
%	3 meses	32,93 (0,2) Aa	33,18 (0,87) Aa
Leucócito	0	6,64 (1,24) Aa	7,15 (1,24) Aa
%	3 meses	5,68 (1,22) Ab	6,59 (1,92) Ab
Eosinófilo	0	1,36 (0,76) Aa	2,68 (2,22) Aa
%	3 meses	3,71 (2,95) Aa	2,43 (1,13) Aa
Metamielócitos	0	0 Aa	0 Aa
%	3 meses	0 Aa	0 Aa
Segmentados	0	61,74 (8,96) Aa	58,2 (10,31) Aa
%	3 meses	53,86 (10,77) Aa	58,88 (4,95) Aa
Linfócitos	0	31,93 (9,15) Aa	35,7 (9,63) Aa
%	3 meses	35,59 (9,61) Aa	31,51 (5,37) Aa
Monócitos	0	3,7 (3,36) Aa	2,8 (1,75) Aa
%	3 meses	5,99 (1,61) Ab	6,7 (1,56) Ab
Plaquetas	0	244,5 (63,74) Aa	250,3 (56,24) Aa
Mm ³	3 meses	228,72 (59,29) Ab	190,9 (68,65) Ab

Médias seguidas de letras distintas (Maiúscula na horizontal e minúsculas na vertical dentro de cada variável) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

Na tabela 2, observa-se o resultado da contagem de células, a média e o desvio padrão para hemácias, hemoglobina, hematócrito, V.C.M., H.C.M., C.H.C.M., leucócitos, eosinófilos, metamielócitos, segmentados, linfócitos, monócitos e plaquetas, não houve diferença estatística significativa entre os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) (Hemácias ($P=0,0681$; ANOVA), hemoglobina ($P=0,2005$; ANOVA), hematócrito ($P=0,2106$; ANOVA), V.C.M. ($P=0,7372$; ANOVA), H.C.M. ($P=0,9118$; ANOVA), C.H.C.M. ($P=0,5120$; ANOVA), leucócitos ($P=0,2171$; ANOVA), eosinófilos ($P=0,9755$; ANOVA), metamielócitos ($P=1$; ANOVA), segmentados ($P=0,8079$; ANOVA), linfócitos ($P=0,9588$; ANOVA), monócitos ($P=0,8822$; ANOVA) e plaquetas ($P=0,6303$; ANOVA)) e entre os tempos inicial e 3 meses (Hemácias ($P=0,1853$; ANOVA), hemoglobina ($P=0,1076$; ANOVA), H.C.M. ($P=0,4086$; ANOVA), C.H.C.M. ($P=0,2633$; ANOVA), eosinófilos ($P=0,0994$; ANOVA), metamielócitos ($P=1$; ANOVA), segmentados ($P=0,2018$; ANOVA), linfócitos ($P=0,9159$; ANOVA)) exceto para (hematócrito ($P=0,0284$; ANOVA), V.C.M. ($P=0,0163$; ANOVA),

leucócitos ($P=0,0446$; ANOVA), monócitos ($P=0,0007$; ANOVA) e plaquetas ($P=0,0007$; ANOVA)).

Tabela 3: Média, Desvio Padrão, Mediana, Mínimo e máximo para basófilos, bastonetes e glicemia encontrados nos grupos não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM) e entre os tempos inicial (0) e 3 meses.

	Tempos	Média (DP) NDM	Media na	mín	má x	Média (DP) DM	Media na	mín	má x
Basófilos %	0	0	0	0	0	0,54 (0,74) Aa	0	0	1,9
	3 meses	0,12 (0,37) Aa	0	0	1,2	0,48 (0,81) Aa	0	0	2
Bastonetes %	0	1,1 (1,59) Aa	0,5	0	5	0,3 (0,94) Aa	0	0	3
	3 meses	0,4 (0,7) Aa	0	0	2	0,10 (0,31) Aa	0	0	1
Glicemia Mg/dl	0	93 (7,51) Aa	97,50	80	99	137,9 (66,28) Aa	124	70	267
	3 meses	88,86 (6,74) Aa	90	77,6	97	143,7 (47,11) Ab	136,5	85	204

Médias seguidas de letras distintas (Maiúscula na horizontal) diferem entre si pelo teste Wilcoxon ($p<0,05$). Médias seguidas de letras distintas (Minúsculas na vertical dentro de cada variável) diferem entre si pelo teste de Mann Whitney ($p<0,05$).

Na tabela 3, o basófilo não apresentou diferença estatística significativa para a comparação entre grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) para o tempo inicial e 3 meses (basófilo inicial ($P=0,7055$; Mann Whitney) e final ($P=0,7000$; Mann Whitney) e entre tempos inicial e 3 meses (basófilo inicial ($P=0,0600$; Wilcoxon), basófilo 3 meses ($P=0,0600$ Wilcoxon)); bastonetes não apresentou diferença estatística significativa para a comparação entre grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) para o tempo inicial e 3 meses (bastonetes inicial ($P=0,3447$; Mann Whitney) e 3 meses ($P=0,9699$; Mann Whitney) e entre tempos inicial e 3 meses (basófilo NDM inicial ($P=0,2249$; Wilcoxon), bastonetes 3 meses ($P=0,1088$ Wilcoxon) e glicemia apresentou diferença estatística significativa para a comparação entre grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) para o tempo inicial e 3 meses (bastonetes inicial ($P=0,1988$; Mann Whitney) e 3 meses ($P=0,0191$; Mann Whitney) e entre tempos inicial e 3 meses (basófilo NDM inicial ($P=0,0926$; Wilcoxon), bastonetes 3 meses ($P=0,9594$ Wilcoxon) mostrando que houve aumento da glicemia.

Os parâmetros clínicos avaliados estão disponíveis nas figuras 1 a 6.

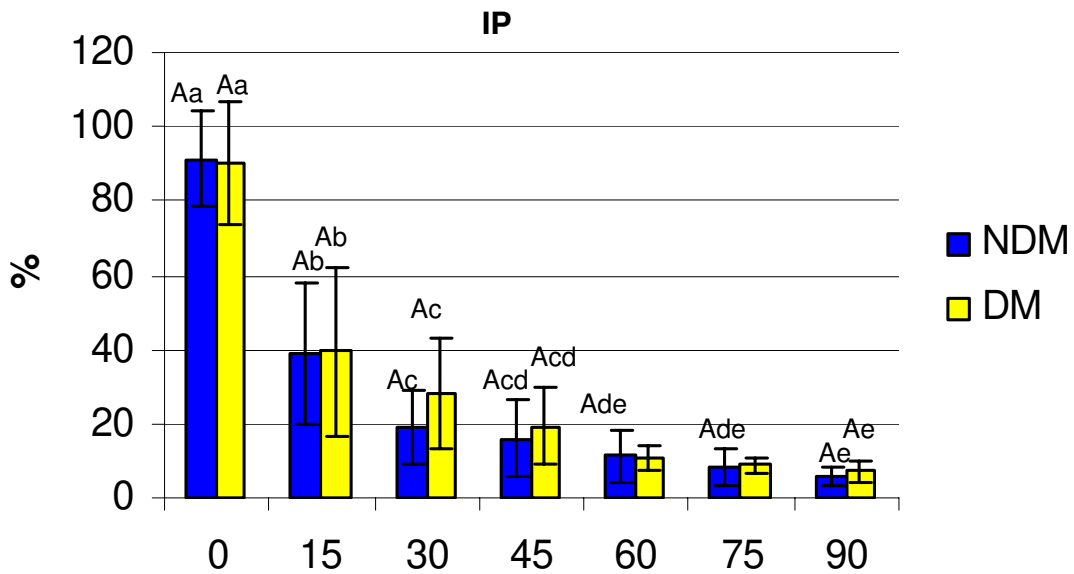


Figura 1: Média e Desvio Padrão do Índice Placa (IP) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

Na figura 1, o Índice de Placa (IP) não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) ($P=0,5881$; ANOVA) e ocorreu diferença estatística significativa entre os tempos 0, 15, 30, 60, 75, 90 dias ($P=0,0001$; ANOVA). Houve diminuição do acúmulo de placa após o controle de higiene oral realizado a cada 2 semanas até o período final de 3 meses de avaliação.

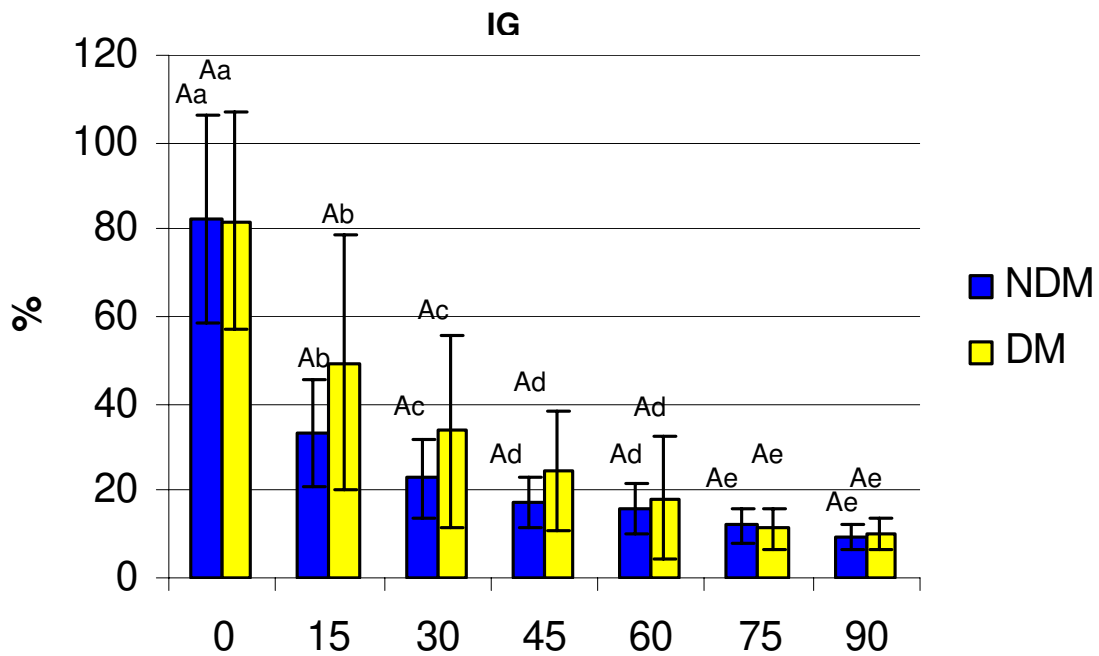


Figura 2: Média e Desvio Padrão do Índice Gengival (IG) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

Na figura 2, o Índice Gengival (IG) não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) ($P=0,5939$; ANOVA transformação em log.) e ocorreu diferença estatística significativa entre os tempos 0, 15, 30, 60, 75, 90 dias ($P=0,0001$; ANOVA transformação em logarítmica). Houve diminuição do sangramento a sondagem após o controle de higiene oral realizado a cada 2 semanas até o período final de 3 meses de avaliação.

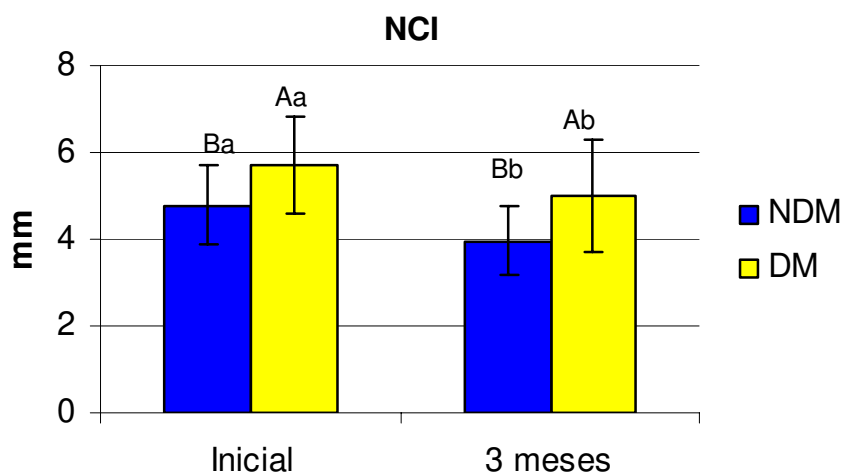


Figura 3: Média e Desvio Padrão do Nível Clínico de Inserção (NCI) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

Na figura 3 o nível clínico de inserção não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) (NCI ($P=0,0530$; ANOVA) e ocorreu diferença estatística significativa entre os tempos inicial e 3 meses (NCI ($P=0,0001$; ANOVA). Aproximadamente 1mm de ganho de nível clínico de inserção para ambos os grupos.

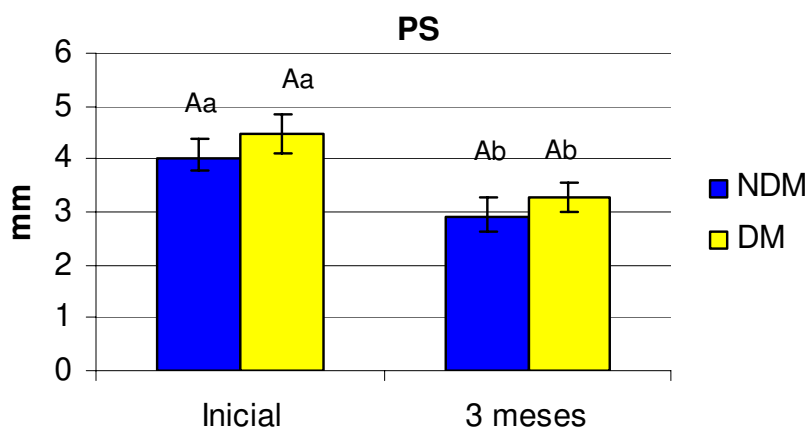


Figura 4: Média e Desvio Padrão da profundidade de sondagem (PS) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

Na figura 4, a profundidade de sondagem não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM), PS ($P=0,0706$; ANOVA) e ocorreu diferença estatística significativa entre os tempos inicial e 3 meses, PS ($P=0,0001$; ANOVA). Ocorreu diminuição da profundidade de sondagem.

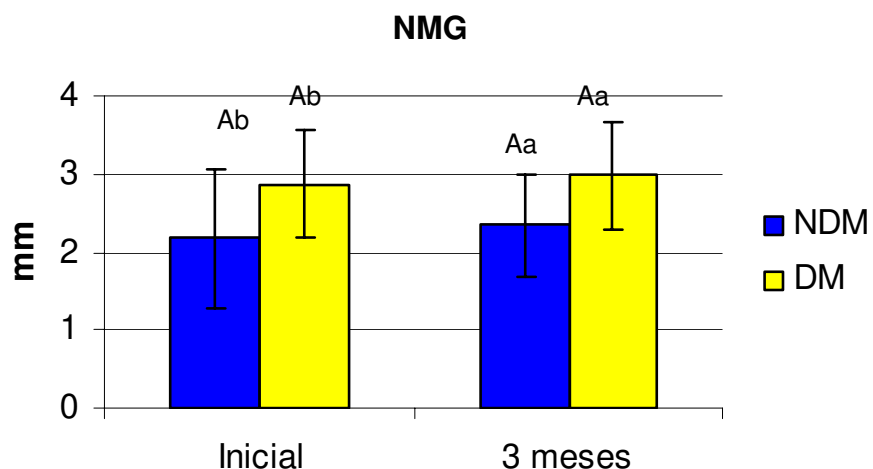


Figura 5: Média e Desvio Padrão do Nível da Margem Gengival (NMG) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p<0,05$).

Na figura 5, o nível da margem gengival não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM), NMG ($P=0,1100$; ANOVA, transformação em log.) e ocorreu diferença estatística significativa entre os tempos inicial e 3 meses, NMG ($P=0,0186$; ANOVA transformação em log). O nível da margem gengival apresentou dois *outlier* para o grupo 1 paciente 5 valor discrepante 0 e 1 no período inicial e 3 meses. Houve retração da margem gengival para ambos os grupos NDM e DM.

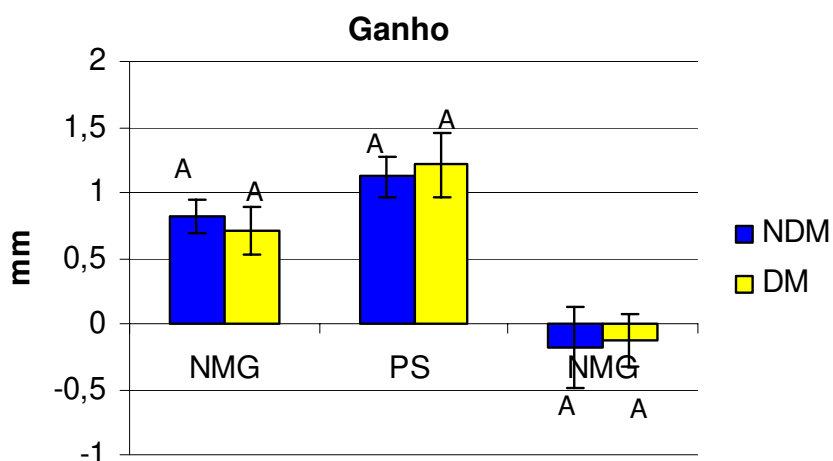


Figura 6: Média e Desvio Padrão do ganho de NCI, PS e NMG para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM). Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

Na figura 6, ganho do nível clínico de inserção, profundidade de sondagem e nível da margem gengival, não apresentaram diferença estatística significativa. Não houve diferença para os parâmetros clínicos avaliados NIC, PS e NMG.

Os resultados do controle metabólico podem ser observados na figura 7.

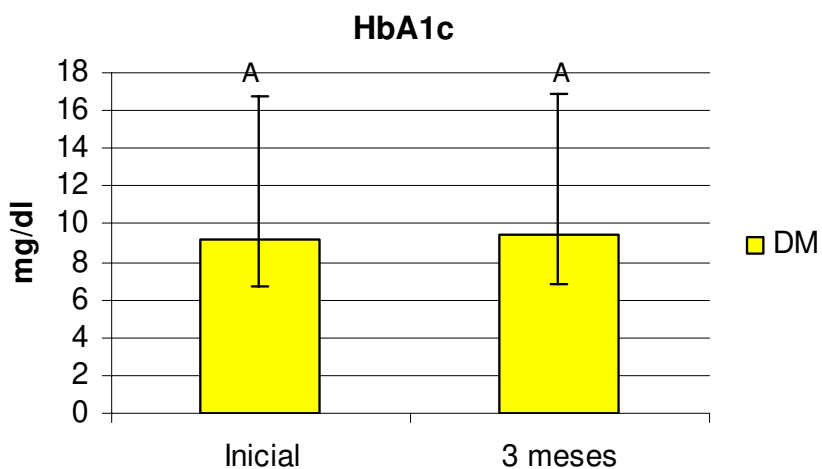


Figura 7: Média e Desvio Padrão para hemoglobina glicosilada (HbA1c) no grupo com Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Médias com letras distintas (Maiúscula) diferem entre si pelo teste "t" Student ($p < 0,05$).

A hemoglobina glicosilada (HbA1c) obtida do grupo com diabetes melito não apresentou diferença estatística significativa entre o tempo inicial e 3 meses

($P=0,7115$; teste “t” *Student* pareado). Não foi observada alteração de HbA1c após o tratamento periodontal.

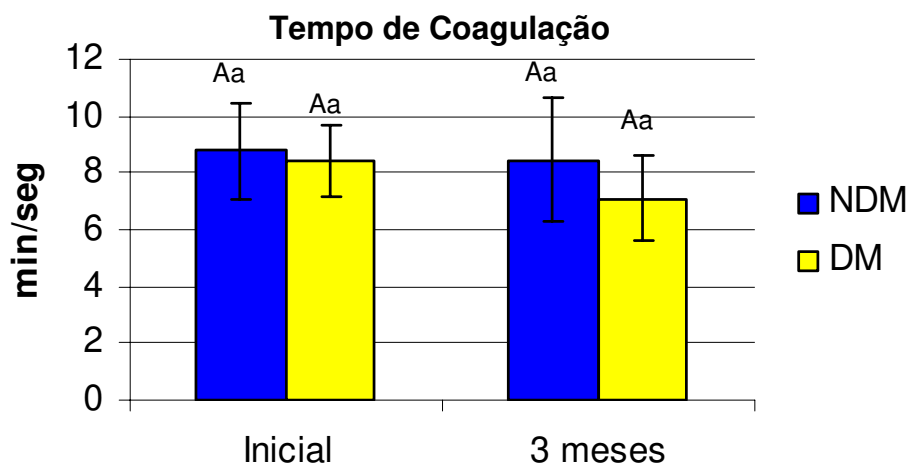


Figura 8: Média e Desvio Padrão para o Tempo de Coagulação (T.C.) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p<0,05$).

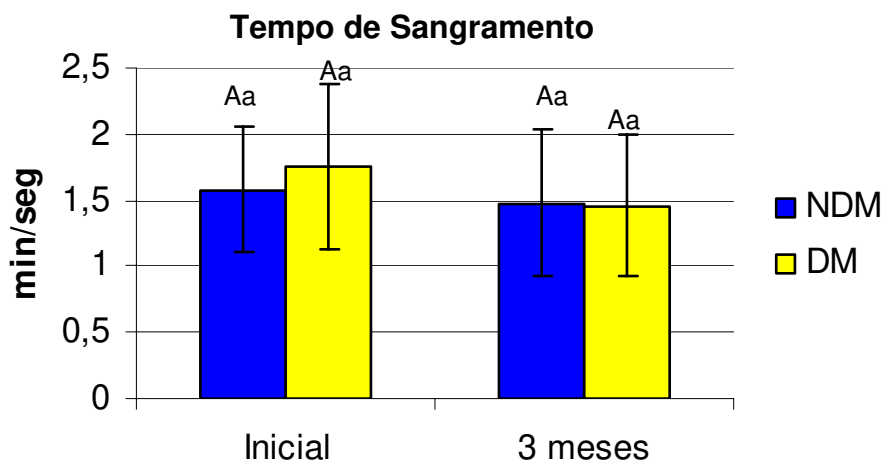


Figura 9: Média e Desvio Padrão para o Tempo de sangramento (T.S.) para os grupos não diabéticos (NDM) e Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Médias com letras distintas (Maiúscula e minúsculas) diferem entre si pela ANOVA ($p<0,05$).

O resultado do coagulograma mostrou que todos os pacientes dos grupos NDM e DM apresentaram prova do laço negativa e os resultados do tempo de coagulação e sangramento estão apresentados na figura de 8 e 9. Na figura 8 e 9 foram avaliados o Tempo de Coagulação (T.C.) e o Tempo de Sangramento (T.S.)

para o grupo não diabéticos e diabetes Melito para os tempos inicial e 3 meses, não houve diferença estatística entre os grupos ((T.C. ($P=0,1904$; ANOVA) e T.S. ($P=0,1506$; ANOVA)) e entre os tempos inicial e 3 meses ((T.C. ($P=0,1904$; ANOVA) e T.S. ($P=0,7243$; ANOVA)).

Nas figuras 10 e 11 pode-se observar o resultado da porcentagem de freqüência de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis*.

Porcentagem de freqüência de microrganismos – PS \geq 5mm

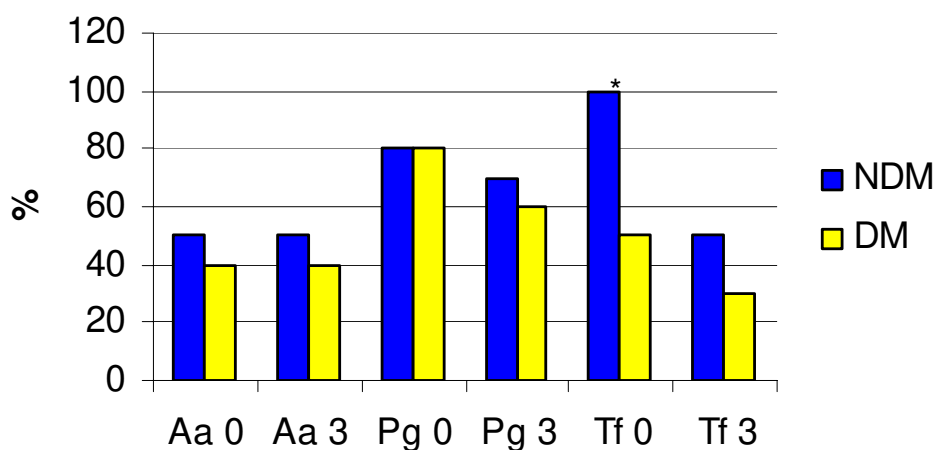


Figura 10: Porcentagem da freqüência de microrganismos presentes (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannarella forsythensis*) correspondente à amostra de sítios com profundidade de sondagem \geq 5mm em pacientes não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses.

* Diferença estatisticamente significativa entre grupos pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

Na figura 10, estão apresentados a distribuição da freqüência de microrganismos (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis*) correspondente à amostra de sítios com profundidade de sondagem \geq 5mm em pacientes não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Os resultados foram obtidos pelo teste exato de Fisher, não mostraram diferença significativa entre os grupos no período inicial (*A. actinomycetemcomitans*: $P=1,000$; *P. gingivalis*: $P=1,000$) exceto para *T. forsythensis*: $P=0,033$ e 3 meses (*A. actinomycetemcomitans*: $P=1,000$; *P. gingivalis*: $P=1,000$; *T. forsythensis*: $P=0,650$).

Porcentagem de frequência de microrganismos – Bifurcações

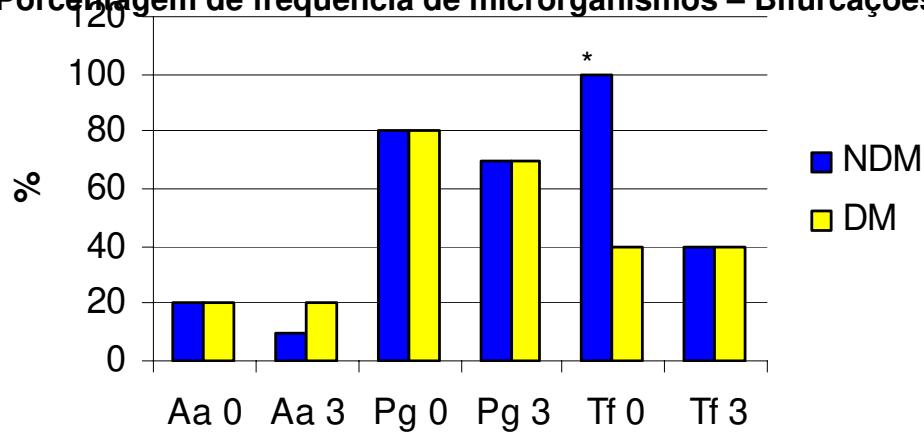


Figura 11: Porcentagem da frequência de microrganismos presentes (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannarella forsythensis*) correspondente à amostra de sítios com bifurcações em pacientes não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses.
* Diferença estatisticamente significativa entre grupos pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

Na figura 11, estão apresentados a distribuição da frequência de microrganismos (*A.actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T.forsythensis*) correspondentes à amostra de sítios com bifurcações em pacientes não diabéticos (NDM) e com Diabetes Melito (DM) nos tempos inicial (0) e 3 meses. Os resultados foram obtidos pelo teste exato de Fisher, não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos no período inicial (*A. actinomycetemcomitans*: $P=1,000$; *P. gingivalis*: $P=1,000$) exceto para *T. forsythensis*: $P=0,011$ e 3 meses (*A. actinomycetemcomitans*: $P=1,000$; *P. gingivalis*: $P=1,000$; *T. forsythensis*: $P=1,000$).

O teste de Mc Nemar foi realizado entre os períodos inicial e 3 meses para observar a mudança entre a presença e ausência de microrganismos nos sítios com $PS \geq 5\text{mm}$ e com bifurcação. Os resultados mostraram diferença estatística significativa somente para *T. forsythensis*, $P=0,0313$ para o grupo NDM, sítios com bifurcação e não mostraram diferença estatística significativa para os outros sítios e microrganismos.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo foram selecionados dois grupos com doença periodontal crônica generalizada, divididos em NDM e DM, para observar as diferenças clínica, hematológica e microbiológica entre eles e após o tratamento da doença periodontal.

O diabetes melito é uma alteração sistêmica considerada fator de risco para doença periodontal, por isso avaliamos a resposta a terapia periodontal em pacientes diabéticos tipo 2, insulino-dependentes. Os critérios de exclusão adotados foram rigorosos para minimizar o aparecimento de viés, por isso dentro desta amostra foram excluídos pacientes fumantes, ao contrário de Grossi *et al.* (1994), Moore *et al.* (1999), Katz *et al.* (2000) e paciente diabéticos tipo 2 não insulino-dependentes, estudados por Nelson *et al.* (1990), Emrich *et al.* (1991), Kawamura *et al.* (2001), Donahue & Wu (2001), Rodrigues *et al.* (2003), Faria-Almeida *et al.* (2006). O perfil dos pacientes estudados pode ser observado na tabela 1.

Os resultados apresentados nas figuras 1 e 2 mostram a efetividade da terapia no controle de placa e sangramento gengival. Pode-se observar a redução do índice de placa e sangramento gengival após 3 meses de acompanhamento. Os resultados encontrados para essas variáveis na literatura são divergentes. Ternoven & Karjalainen (1997) e De Pommereau *et al.* (1992), encontraram resultados semelhantes ao nosso estudo para o índice de placa, no qual, não encontraram diferenças entre os grupos diabéticos e não diabéticos para o Índice de placa. No entanto, Bridges *et al.* (1996) encontraram maior índice de placa e sangramento gengival para pacientes diabéticos e Kawamura *et al.* (2001) não encontraram relação entre acúmulo de placa e a presença da doença periodontal, pois segundo os autores os pacientes mantinham cuidados de higiene oral. Quanto ao índice gengival, Aren *et al.* (2003) encontraram maior inflamação gengival para o grupo com diabetes do que para o grupo sem diabetes, assim como Guthmiller *et al.* (2001) também encontrou maior sangramento gengival para pacientes gestantes diabéticas do que não diabéticas.

A inflamação gengival pode estar relacionada com a falta de controle glicêmico do paciente com diabetes melito (American Academic Periodontology, 2000). De Pommereau *et al.* (1992) observaram maior inflamação gengival em adolescentes do grupo com diabetes do que com o grupo controle não diabéticos, sendo que não houve diferença estatística significativa para higiene oral em ambos os grupos. Karjalainen & Knuutila (1996) encontraram menor ocorrência de gengivite em pacientes bem controlados do que nos pouco controlados que exibiram inflamação bem mais acentuada.

Quanto aos parâmetros clínicos avaliados, nível clínico de inserção, profundidade de sondagem, nível da margem gengival e ganho de inserção clínica, apresentados nas figuras 3, 4, 5 e 6, não encontramos diferenças entre os grupos DM e NDM avaliados após a terapia periodontal realizada em única sessão por meio de raspagem e alisamento radicular, porém encontramos redução dos parâmetros nível clínico de inserção e profundidade de sondagem em ambos os grupos NDM e DM e aumento da retração da margem gengival, como demonstrado na figura 6. Esse posicionamento apical da margem gengival também foi encontrado por Guthmiller *et al.* (2001) em pacientes gestantes diabéticas e Seppälä *et al.* (1993) após avaliar pacientes diabéticos com pobre controle metabólico.

Complicações decorrentes da falta de controle metabólico em pacientes com diabetes melito podem agravar a condição periodontal. Papapanou (1996) demonstrou que a maioria dos estudos mostra uma condição periodontal de maior gravidade nos adultos com diabetes do que nos adultos sem diabetes. Seppälä *et al.* (1993) avaliaram grupos de diabéticos controlados e não controlados por 2 anos e concluíram que o grupo de diabéticos não controlados apresentou maior perda de inserção, gengivite, sangramento a sondagem do que diabéticos controlados e não diabéticos. Assim como, Taylor *et al.* (1998) demonstraram que os diabéticos tipo 2 demonstraram progressão de perda óssea alveolar significativamente maior para diabéticos do que não diabéticos por período de 2 anos de acompanhamento.

A opção pela terapia periodontal realizada por procedimento de raspagem e alisamento radicular realizados em única sessão em pacientes diabéticos foi baseada no trabalho de Greenstein (2002), pois segundo o autor essa modalidade de tratamento proporciona benefício para o paciente, pois reduz o número de sessões de raspagem, ou seja, a remoção de placa bacteriana e cálculo ocorre em uma única sessão. Neste estudo, não utilizamos o protocolo de Quirynen *et al.* (1995) que utiliza esse tipo de terapia associada ao controle de placa e a antimicrobianos (clorexidina), mas utilizamos a raspagem e alisamento radicular associado a um rigoroso controle de higiene oral como sugerido por Ternoven & Oliver (1993) e Moore *et al.* (1999).

Na literatura existem diferentes abordagens da terapia periodontal em pacientes diabéticos. A terapia convencional foi utilizada por Christgau *et al.* (1998) e Faria-Almeida *et al.* (2006) em pacientes diabéticos tipo 2 e não diabéticos. Os autores não encontraram diferenças para a resposta clínica de ambos os grupos. Assim como, Westfelt *et al.* (1996) também não encontraram diferenças na resposta clínica após terapia convencional complementada por terapia cirúrgica em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 e não diabéticos após 5 anos de acompanhamento. Rodrigues *et al.* (2003) utilizaram a terapia de raspagem e alisamento radicular boca toda associada a administração de 875mg amoxicilina/ácido clavulânico em grupo teste por período de avaliação de 3 meses em pacientes diabéticos tipo 2 não insulino-dependentes e não encontraram diferença na resposta clínica. Schara *et al.* (2006) utilizaram a terapia de raspagem e alisamento radicular, boca toda, realizada em única sessão associada a antimicrobianos, protocolo de Quirynen *et al.* (1995), e não encontraram diferença na resposta clínica entre os grupos com diabetes melito tipo 1 e sem alterações sistêmicas. Esses resultados também foram encontrados em nosso estudo.

Os parâmetros metabólicos selecionados neste estudo, glicemia, para ambos os grupos NDM e DM, e hemoglobina glicosilada HbA1c, para o grupo de diabetes, teve como finalidade, a glicemia de confirmar a ausência de diabetes no

grupo controle entre os períodos inicial e final e verificar a glicemia dos diabéticos, e a hemoglobina glicosilada HbA1c, teve a finalidade de monitorar a ligação estável glicose/hemoglobina dos últimos 90 dias nos pacientes diabéticos. Os resultados encontrados mostraram que o nível de glicose dos pacientes diabéticos foram maiores no final do estudo, estes resultados podem ser observados na tabela 3. O nível de HbA1c para pacientes diabéticos não apresentou alterações após o tratamento periodontal (Figura 7).

Quanto a relação do controle metabólico em diabéticos e o resultado da terapia periodontal, Taylor *et al.* (2001) relatam que esta relação ainda não está clara, pois pacientes diabéticos, com pouco controle da glicemia, podem desenvolver ou não doença periodontal, assim como diabéticos bem controlados, com boa higiene oral, podem ou não desenvolver doença periodontal. No entanto, para esse estudo selecionamos duas variáveis, glicemia e hemoglobina glicosilada para avaliar o controle metabólico dos pacientes diabéticos com doença periodontal.

Segundo Tervonen & Karjalainen (1997) a influência da condição do diabetes na saúde dos tecidos periodontais, pode ser significativa se o controle metabólico for constante para HbA1c >10.0%, ocasionando o aparecimento de outras complicações. No estudo de Tervonen & Karjalainen (1997) foram estudados pacientes com pobre controle glicêmico e os autores encontraram menor resposta para a terapia periodontal nos pacientes com pobre controle metabólico quando comparados aos controlados e não diabéticos. Faria-Almeida *et al.* (2006), Schara *et al.* (2006), Aren *et al.* (2003) relatam que após o tratamento periodontal ocorre redução da glicemia em pacientes diabéticos.

Porém em nosso estudo não foi observado nenhuma redução no controle metabólico conforme observado na figura 7 e tabela 3, pelo contrário ocorreu aumento da glicemia após 3 meses. Isto ocorreu, pois os pacientes selecionados para o estudo, não se apresentavam controlados, embora o atendimento clínico tenha sido em horários diurnos com índice de glicemia baixo. Estes pacientes apresentavam variações após as refeições e descontrole diário que refletiram nos

resultados do controle metabólico (HbA1c) e confirmam a dificuldade em controlá-los, portanto somente o tratamento periodontal isolado não foi capaz de promover melhoras na redução do controle metabólico, sugerindo que outras variáveis podem estar envolvida com o controle do diabetes.

A infecção periodontal pode influenciar de maneira adversa o controle glicêmico do diabético. Taylor *et al.* (1998) examinaram indivíduos com diabetes tipo 2 para determinar se a periodontite grave aumenta o risco do controle inadequado da glicemia. Dos indivíduos selecionados para o estudo, alguns apresentavam periodontite grave e outros não, sendo que todos tinham a glicemia bem controlada no início do estudo, como indicado pelos níveis de hemoglobina glicosilada (HbA1) menores que 9%. No novo exame realizado após 2 anos, uma maior proporção de indivíduos com periodontite grave mostraram mal controle da glicemia (HbA > 9%) do que os indivíduos sem periodontite grave. A periodontite grave no início dos estudos aumentou 6 vezes o risco de controle inadequado da glicemia no acompanhamento do paciente.

Segundo Grossi (2001) a infecção bacteriana e viral tem mostrado aumento da resistência à insulina e agravamento do controle glicêmico. Isto ocorre tanto em diabéticos quanto em não diabéticos. A resistência à insulina persiste por um certo período, semanas ou meses, após a recuperação clínica da infecção. No diabético tipo 2, o paciente que já apresenta resistência a insulina, mostrará resistência reforçada pela infecção, podendo exacerbar consideravelmente o controle inadequado do diabetes. No diabético tipo 1, as doses prescritas de insulina podem ser suficientes para manter um bom controle glicêmico na presença de infecção, que induza a resistência dos tecidos. Grossi (2001) relatam que é possível que infecções crônicas periodontais com Gram-negativos possam também resultar em resistência à insulina e controle glicêmico inadequado. O tratamento periodontal realizado para diminuir o efeito bacteriano e a inflamação podem restaurar a sensibilidade à insulina ao longo do tempo, resultando em um melhor controle metabólico. Segundo Grossi (2001) a melhora no controle

metabólico pode ser observada nos estudos que combinaram tratamento mecânico periodontal e antibióticoterapia, podem apoiar esta hipótese.

A melhora do controle metabólico tem sido coincidente com a melhora das condições periodontais. Miller *et al.* (1992) sugeriram que a melhora da saúde periodontal pode vir acompanhada da melhora do controle metabólico dos diabéticos e pode indicar benefícios potenciais sistêmicos do tratamento periodontal nos diabéticos pouco controlados com periodontite, pois encontraram redução do controle metabólico dos pacientes diabéticos descontrolados. Porém, Christigau *et al.* (1998) avaliaram indivíduos com bom e moderado controle de diabetes e com periodontite, que receberam tratamento de raspagem e alisamento radicular sem antibióticoterapia sistêmica, mas não encontraram alteração no controle da glicemia a despeito da melhora obtida nos parâmetros periodontais. O mecanismo pelo qual a antibióticoterapia pode induzir alterações positivas no controle glicêmico, combinada com o tratamento mecânico periodontal ainda não são conhecidos até o momento. É possível que a melhora do controle metabólico esteja associada à eliminação dos microrganismos patogênicos quando associados a antibióticoterapia.

Porém, Sastrawijoto *et al.* (1989) avaliaram a presença e contagem de *Actinobacillus actinomycetemcomytans*, *Bacteróides intermedius* e *Capnocytophaga sp* em pacientes diabéticos insulino-dependentes controlados e não controlados, em sítios saudáveis e com doença periodontal. Os autores não encontraram diferença entre pacientes diabéticos controlados e descontrolados para a presença de *Actinobacillus actinomycetemcomytans*, *Bacteróides intermedius*, no entanto, baixos níveis de *Capnocytophaga sp* foram observados ao contrário de Mashimo *et al.* (1983) que relataram que *Capnocytophaga sp* são predominantes na microflora subgengival de diabéticos tipo 1.

Neste estudo foram avaliados três tipos de microrganismos, *Actinobacillus actinomycetemcomytans*, *Porphyromonas gingivalis*. e *Tannarella forsythensis*, e foi observado diferença estatística significativa, redução de microrganismos, apenas para *T. forsythensis* em ambos os grupos NDM e DM após 3 meses, como

pode ser observado nas figuras 11 e 12. Nossos achados concordam com Christgau *et al.* (1998) que avaliaram diabéticos insulino-dependentes, diabéticos não insulino-dependentes e pacientes sem diabetes, todos com doença periodontal e avaliaram a presença de *A. actinomycetemcomytans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* antes e após 4 meses de tratamento periodontal convencional. Os autores desse estudo não encontraram predominância de uma das espécies avaliadas e relataram que os periodontopatógenos apresentaram níveis similares de microrganismos entre os grupos. Esses achados também concordam com os achados de Sbordone *et al.* (1995) que encontraram composição da microflora subgingival similar para pacientes diabéticos e não diabéticos. Porém, os nossos resultados devem ser avaliados com cautela, pois não encontramos nenhum outro estudo que tenha realizado avaliação microbiológica em pacientes diabéticos submetidos a terapia de raspagem e alisamento radicular, em única sessão, para compararmos nossos resultados.

A análise dos parâmetros hematológicos avaliados, hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, leucócitos, eosinófilos, metamielócitos, segmentados, linfócitos, monócitos, plaquetas, bastonetes, basófilos, tempo de coagulação e sangramento, estão apresentados na tabela 2 e 3 e figuras 8 e 9 demonstram que não houve alterações desses valores que representasse algum significado clínico, ou seja, a manifestação de alguma outra complicação, como por exemplo, a anemia. Embora em algumas variáveis da tabela 2, apresentaram diferença entre tempos, essas diferenças se mantiveram dentro dos limites normais para contagem de células, não representando alteração clínica para os pacientes. Não foi encontrado nenhum outro trabalho clínico que apresentassem a contagem de células vermelhas e brancas que pudessem ser comparados com esse estudo.

Baseado nos resultados encontrados neste estudo, concluímos que a terapia periodontal realizada por meio de raspagem e alisamento radicular, boca toda, em única sessão associada ao controle rigoroso de placa, não demonstrou

diferença estatística significativa dos parâmetros clínicos e hematológicos avaliados nos grupos NDM e DM, mas foi capaz de demonstrar redução na presença de *T. forsythensis*, para o grupo NDM, sítios com bifurcação, após o período de avaliação de 3 meses. Portanto, devido a poucos relatos na literatura, sugerimos que novos estudos longitudinais com maior tempo de acompanhamento sejam realizados para observar se esses resultados serão mantidos.

7 CONCLUSÃO

Dentro dos limites deste estudo conclui-se que os pacientes com diabetes melito (DM) apresentaram resposta clínica, hematológica e microbiológica semelhante ao grupo não diabético (NDM) após a terapia periodontal realizada em uma única sessão. Esses achados são confirmados, pois ambos os grupos apresentaram melhora clínica, não apresentaram alterações nos hemograma e coagulograma e obtiveram resposta microbiológica similar após o período de avaliação de 3 meses.

REFERÊNCIAS*

1. American Academic Periodontology. Position Paper. Diabetes and periodontal disease. *J Periodontol* 2000; 71: 664-678.
2. American Diabetes Association. Position Statement. Diagnosis and Classification of diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29 (Suppl 1): S43-S48.
3. American Diabetes Association. Position Statement. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(Suppl 1): S4-S36.
4. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal* 1975; 32: 281-89.
5. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11: 266-273.
6. Aren G, Sepet E, Özdemir D, Dinççag N, Güvener B, Firalti E. Periodontal health, salivary status and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J Periodontol* 2003; 74: 1789-1795.
7. Bacic M, Plancak D, Granic M. CPITN assessment of periodontal status in diabetic patients. *J Periodontol* 1988; 59: 816-822.
8. Benkirane RM, Guillot E, Mouton C. Immunomagnetic PCR and DNA probe for detection and identification of *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2908-2912.
9. Bridges RB, Anderson JW, Saxe SR, Gregory K, Bridges SR. Periodontal status of diabetic and non-diabetic men: effects of smoking, glycemic control, and socioeconomic factors. *J Periodontol* 1996; 67: 1185-1192.
10. 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*

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP , baseada na norma Internacional Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com Medline.

- Periodontol 1998; 25: 112-24.
11. De Pommereau V, Dargent-Pare C, Robert J, Brion M. Periodontal status in insulin-dependent diabetic adolescents. *J Clin Periodontol* 1992;19:628-632.
 12. Donahue RP, Wu T. Insulin resistance and periodontal disease: An epidemiologic overview of research needs and future directions. *Ann Periodontol* 2001; 6: 119-24.
 13. Doyle JJT, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 1990; 12: 13-18.
 14. Emrich LJ, Shlossman M, Genco R. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1991; 62: 123-130.
 15. Faria-Almeida R, Navarro A, Bascones A. Clinical and metabolic changes after conventional treatment of type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2006; 77: 591-8.
 16. Greenstein G. Full-mouth therapy versus individual quadrant root planning: a critical commentary. *J Periodontol* 2002; 73: 797-812.
 17. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM, Genco RJ. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol* 1994; 65: 260-267.
 18. Grossi SG. Treatment of periodontal disease and control of diabetes: An assessment of the evidence and need for future research. *Ann Periodontol* 2001; 6: 138-145.
 19. Guthmiller JM, Hassebroek-Johnson JR, Weenig DR, Johnson GK, Kirchner HL, Kohout FJ, Hunter SK. Periodontal disease in pregnancy complicated by type 1 diabetes mellitus. *J Periodontol* 2001; 72: 1485-1490.
 20. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Ann Periodontol* 2001; 6: 125-37.
 21. Jones WA, O'Leary TJ. The effectiveness of in vivo root planning in removing bacterial endotoxin from the roots of periodontally involved teeth. *J Periodontol*. 1978; 49: 337-42.
 22. Karjalainen K, Knuutila M. The onset of diabetes and poor metabolic control

- increases gingival bleeding in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 1060-1067.
23. Katz J, Chaushu G, Sgan-Cohen HD. Relationship of blood glucose level to community periodontal index of treatment needs and body mass index in a permanent israeli military population. *J Periodontol* 2000; 71: 1521-1527.
 24. Kawamura M, Tsurumoto A, Fukuda S, Sasahara H. Health behaviors and their relation to metabolic control and periodontal status in diabetic type 2: a model tested using a linear structures relations program. *J Periodontol* 2001; 72: 1246-1253.
 25. Lalla E, Lambster IB, Drury S, Fu C, Schimidt AM. Hyperglycemia, glycosidation, and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontology* 2000 2000; 23: 50-62.
 26. Lalla E, Lambster IB, Stern DM, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation and products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insight into therapeutic modalities. *Ann Periodontol* 2001; 6: 113-8.
 27. Lamster IB, Lalla E. Periodontal disease and diabetes mellitus: discussion, conclusions and, recommendations. *Ann Periodontol* 2001; 6: 146-9.
 28. Mashimo PA, Yamamoto Y, Slots J, Park BH, Genco RJ. The periodontal microflora of juvenile diabetics: culture, immunofluorescence and serum antibody studies. *J Periodontol* 1983; 54: 420-15.
 29. Mealey BL, Oates TW. AAP- Commissioned review. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *J Periodontol* 2006; 77: 1289-1303.
 30. Miller LS, Manwell MA, Newbold D, Reding ME, Rasheed A, Blodgett J, Kornman KS. The relationship between reduction in periodontal inflammation and diabetes control: a report of 9 cases. *J Periodontol* 1992; 63: 843- 8.
 31. Moore PA, Weynant RJ, Mongelluzzo MB, Myers DE, Rossie K, Guggenheimer J, Block HM, Huber H, Orchard T. Type 1 diabetes mellitus

- and oral health: assessment of periodontal disease. *J Periodontol* 1999; 70: 409-417.
32. Nelson RG, Shlossman M, Budding LM, Pettit DJ, Saad MF, Genco RJ, Knowler WC. Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. *Diabetes Care* 1990; 13: 836-840.
 33. Noack B, Jachmann I, Roscher S, sieber L, Kopprasch S, Lück C, Hanefeld M, Hoffmann T. Metabolic diseases and their possible link to risk indicators of periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71: 898-903.
 34. Papapanou PN. 1996 World Workshop in Clinical Periodontics. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol* 1996; 62: 123-30.
 35. Quirynen M, Bollen CML, Vandekerckhove BNA, Dekeyser C, Papaioannou W, Eysen H. Full-versus partial mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res* 1995; 74: 1459-1467.
 36. Rodrigues D, Taba Jr M, Novaes Jr AB, souza SLS, Grisi MFM. Effect on non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol* 2003; 74: 1361-1367.
 37. Sastrawijoto SH, Hillemans P, Van Steenberghe TJM, Abraham-Inpijn L, Graaff J. Periodontal condition and microbiology of healthy and diseased periodontal pockets in type 1 diabetes mellitus patients. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 316-22.
 38. Sbordone L, Ramaglia L, Borone A, Ciaglia RN, Tenore A, Iacono VJ. Periodontal status and selected cultivable anaerobic microflora of insulin-dependent juvenile diabetics. *J Periodontol* 1995; 66: 452-461.
 39. Schara R, Medvescek M, Skaleric U. Periodontal disease and metabolic control a full-mouth disinfection approach. *J Int Acad Periodontol* 2006; 8: 61-6.
 40. Seppälä B, Seppälä M and Ainamo J. A longitudinal study on insulin-dependent diabetes mellitus and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 161-5.

41. Slots, Ashimoto A, Flynn MJ. Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 304-7.
42. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal disease and diabetes: an overview. *Ann Periodontol* 2001; 6: 91-8.
43. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, Pettit DJ. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol* 1998; 69: 76-83.
44. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: An epidemiologic perspective. *Ann Periodontol* 2001; 6: 99-112.
45. Tervonen T, Karjalainen K. Periodontal disease related to diabetic status. A pilot study of the response to periodontal therapy in type 1 diabetes. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 505-10.
46. Tervonen T, Oliver RC. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 431-5.
47. Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 16 S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol.* 1991; 173: 697-703.
48. Westfelt E, Rylander H, Blohmé G, Jonasson P, Lindhe J. The effect of periodontal therapy in diabetics. Results after 5 years. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 92-100.




COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Raspagem e alisamento radicular da cavidade bucal em pacientes com diabetes melito portadores de periodontite crônica. Avaliação clínica e microbiológica", protocolo nº 119/2006, dos pesquisadores **ANTONIO WILSON SALLUM, GABRIELA ALESSANDRA DA CRUZ e SÉRGIO DE TOLEDO**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 26/09/2006.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Full-mouth scaling and root planning of diabetes mellitus patients with chronic periodontal disease. Clinical and microbiological evaluations", register number 119/2006, of **ANTONIO WILSON SALLUM, GABRIELA ALESSANDRA DA CRUZ and SÉRGIO DE TOLEDO**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 26/09/2006.



Profa. Cecília Satti Guirado
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP



Prof. Jaeks Jorge Júnior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.