



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



JULIA HELENA GIMENES

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO DESENVOLVIMENTO DA GENGIVITE EXPERIMENTAL  
LOCALIZADA, EM INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES

CLINICAL EVALUATION OF PARAMETERS IN THE DEVELOPMENT OF LOCALIZED  
EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN SMOKERS AND NONSMOKERS SUBJECTS.

\* Monografia apresentada a Faculdade de Odontologia de Piracicaba, como requisito para obtenção do título de especialista em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Z. Casati

Co-orientadora: Profa. Dra. Daiane Peruzzo

Piracicaba

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



JULIA HELENA GIMENES

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO DESENVOLVIMENTO DA GENGIVITE EXPERIMENTAL  
LOCALIZADA EM INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES

CLINICAL EVALUATION OF PARAMETERS IN THE DEVELOPMENT OF LOCALIZED  
EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN SMOKERS AND NONSMOKERS SUBJECTS.

\* Monografia apresentada a Faculdade de Odontologia de Piracicaba, como requisito para obtenção do título de especialista em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Zaffalon Casati

Co-orientadora: Profa. Dra. Daiane Peruzzo

Piracicaba

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

G429a      Gimenes, Julia Helena, 1989-  
Avaliação clínica do desenvolvimento da gengivite  
experimental localizada, em indivíduos fumantes e não  
fumantes / Julia Helena Gimenes. -- Piracicaba, SP : [s.n.],  
2013.

Orientador: Márcio Zaffalon Casati.

Coorientador: Daiane Cristina Peruzzo.

Trabalho de Conclusão de Curso (especialização) –  
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba.

1. Biofilme. 2. Fumo. 3. Inflamação. 4. Fatores de  
risco. I. Casati, Márcio Zaffalon, 1973- II. Peruzzo, Daiane  
Cristina. III. Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

## *AGRADECIMENTOS*

Á Profa Dra. Daiane Peruzzo, pela paciência na orientação, amizade e incentivo que tornaram possível a conclusão dessa monografia

Ao prof. Marcio Casati que me acompanhou durante a graduação, e me ajudou muito a concluir essa monografia

A todos os professores do curso, que foram tão importante na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia

A todos os voluntários e as pessoas que contribuíram para a realização desse trabalho, direta ou indiretamente

## SUMÁRIO

RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	7
INTRODUÇÃO.....	8
REVISÃO DE LITERATURA.....	10
PROPOSIÇÃO .....	19
MATERIAIS E MÉTODOS .....	20
RESULTADOS .....	23
DISCUSSÃO .....	26
CONCLUSÃO .....	28
REFERENCIAS .....	29
ANEXO I .....	34
ANEXO II .....	40
ANEXO III .....	42

## RESUMO

A gengivite é uma inflamação da gengiva marginal causada pelo acúmulo de biofilme dental bacteriano, sendo que além do biofilme, outros fatores locais, comportamentais e/ou sistêmicos podem alterar o desenvolvimento da doença, modificando a resposta do hospedeiro e a progressão da inflamação, sendo o fumo o principal fator de risco local. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar clinicamente o desenvolvimento da gengivite experimental localizada (GEL), em fumantes e não fumantes. Foram selecionados 28 indivíduos saudáveis periodontalmente e sistemicamente, sendo 14 fumantes (F) e 14 não fumantes (NF). Todos os pacientes foram submetidos a um período de intenso controle de biofilme até atingir saúde gengival (dia 0). No início dos períodos experimentais, todos receberam uma placa de acrílico individualizada (*stent*), de incisivo lateral inferior a segundo molar, e foram orientados a não higienizar a área por 21 dias, para o desenvolvimento da GEL. Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados: índice de Placa (IP), INDICE DE Sangramento Gengival (ISG) e volume do fluido crevicular gengival (FCG). Sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção foram avaliados somente no início do estudo como critério de diagnóstico de saúde periodontal. Todos os parâmetros foram avaliados no início do estudo e nos dias 0, 5, 7, 14, 21 e 28. Após análise dos dados, pode-se observar que: i) para o dia 0, não houve diferença estatística entre NF e F, tanto para IP, SG e FCG, sendo que todos apresentaram valores muito baixos; ii) aos 21 dias, não houve diferença intergrupo para o IP e FCG entretanto, diferenças intragrupo estatisticamente significantes ( $p < 0,005$ ) foram observadas em ambos os grupos entre 0 e 21 dias; iii) para o ISG, diferenças intergrupo foram observadas aos 21 dias sendo que o ISG foi menor no grupo F; iv) aos 28 dias todos os parâmetros retornaram para valores próximos ao dia 0, sem diferenças estatísticas nos dois grupos. Desta forma conclui-se que o fumo foi capaz de alterar a resposta inflamatória dos indivíduos durante a GEL.

**PALAVRAS CHAVE:** gengivite, gengivite experimental, fatores de risco, fumo.

## ***ABSTRACT***

Gingivitis is a gingival inflammation caused by accumulation of bacterial biofilm, besides the biofilm addition, other local factors, behavioral and / or systemic can affect the development of the disease, altering the host response, and progression of inflammation, and the smoke is the main risk factor site. Thus, the objective of this study was to evaluate the development of clinically localized experimental gingivitis in smokers and nonsmokers. Were selected 28 periodontally and systemically healthy subjects, 14 smokers (S) and 14 nonsmokers (NS). All patients underwent a period of intensive control of biofilm until gingival health (day 0). At the beginning of the experimental period, all received an acrylic plate individualized (stent), lower lateral incisor to second molar, and no oral hygiene guidelines in the area for 21 days, for the development of experimental located gingivitis. The following clinical parameter were evaluated: Plaque index (PI), gingival bleeding (SG) and volume of gingival crevicular fluid (GCF). Bleeding on probing, probing depth and clinical attachment level were assessed only at baseline as a criterion for diagnosis of periodontal health. All parameters were assessed at baseline and at 0, 5, 7, 14, 21 and 28. After analyzing, we can observe that: i) for day 0, there was no statistical difference between NS and S, both for IP, SG and FCG, all of which showed very low values, ii) at 21 days, not intergroup difference was found for the IP, SG and FCG however, a statistically significant difference ( $p < 0.005$ ) when compared to time 0, both for S as for NS was founded; iii) when S and NS were compared at 21 days, the group S presented a statistically significant lower than the NS group for ISG iv) at 28 days, all parameters returned to values close to day 0, with no statistical differences. Within the limits of this study, it can be observed that on day 0 all subjects had gingival health and developed experimental gingivitis at 21 days, and the group S showed much less pronounced signs of inflammation. Thus it is concluded that smoking was able to modify the inflammatory response in smokers during experimental located gingivitis. **KEYWORDS:** gingivitis, experimental gingivitis, risk factors, smoking.

## I- INTRODUÇÃO

A gengivite caracteriza-se pela inflamação dos tecidos marginais do periodonto, sem destruição tecidual, causados pelo biofilme dental bacteriano supra gengival (4). Sob o aspecto etiopatogênico, não existem indivíduos resistentes às gengivites, desde que haja o acúmulo de biofilme por um período de tempo superior àquele que o organismo consegue suportar em homeostase. Entretanto moduladores da resposta inflamatória de natureza genética, ambiental e /ou comportamental, bem como a composição da microbiota são características que podem alterar ou contribuir o desenvolvimento das doenças periodontais (5).

Para avaliar eventos que ocorrem durante o início e evolução da gengivite, surgiu o modelo de “gengivite experimental em humanos” em 1965, desenvolvido por Løe e seus colaboradores, em que os voluntários sucumbiram seus hábitos de higiene oral durante 21 dias, e no final desse período observou-se que houve um rápido aumento na quantidade de biofilme e desenvolvimento de gengivite, provando que a gengivite se desenvolve em todos os indivíduos, sem exceções, com o abandono dos hábitos de higiene oral. E que com o retorno do controle diário de placa bacteriana desapareciam os sinais clínicos da inflamação gengival (20). A partir de então, surgiram inúmeras pesquisas clínicas que seguiram o modelo da gengivite experimental em humanos.

O termo fator de risco no contexto periodontal é usado quando a presença de um fator aumenta as chances de um indivíduo desenvolver a doença, ou aumenta a sua progressão (33), e diversos estudos tem demonstrado que o uso do tabaco é o maior fator de risco para a doença periodontal crônica (34, 35, 36, 37). Em 1994, Grossi et al., demonstrou que fumantes tem de 2-7 vezes mais chance de desenvolver doença periodontal do que os não fumantes, e posteriormente, comprovou o efeito dose-dependente do cigarro, demonstrando que quanto maior o número de cigarros consumidos por dia, maior era a perda de inserção. (39, 40)

Lie et al. (1998) estudaram a microbiota oral em fumantes e não fumantes em gengivite natural e experimentalmente induzida. No 14<sup>o</sup> dia do período experimental, o nível de formação de placa não foi diferente entre fumantes e não fumantes, mas os níveis de sangramento foram menores em fumantes do que em não fumantes (15% e 30% respectivamente). Mudanças na microbiota foram encontradas em ambos os

grupos, mas o grupo de não fumantes foi subdividido em dois outros grupos: o grupo com uma resposta inflamatória “fraca” e o grupo “forte”, mas essa diferença não pode ser explicada por alguma relação com alguma espécie bacteriana presente no biofilme, portanto, concluiu-se que as diferenças na resposta a gengivite experimental não são causadas por diferenças na composição da microbiota. (44).

Devido a todas as diferenças citadas anteriormente, o estudo da gengivite experimental localizada nos parâmetros clínicos em indivíduos fumantes e não fumantes é de relevância para a área, já que ainda não se sabe ao certo as diferenças dos mecanismos de transição da saúde para um quadro de gengivite, em indivíduos saudáveis fumantes e não fumantes. Além disso, o manuseio de pacientes fumantes ainda constitui-se um significativo desafio para o periodontista. Desta forma o objetivo desse estudo é avaliar os parâmetros clínicos no desenvolvimento da gengivite experimental localizada, em fumantes e não fumantes.

## II- REVISÃO DE LITERATURA

As doenças periodontais (gingivites e periodontites), tem como fator etiológico primário o biofilme dental bacteriano (1, 2). As bactérias presentes no biofilme dental estão, na maior parte do tempo, em equilíbrio com seu hospedeiro, resultando na preservação da saúde do indivíduo. Entretanto, quando essa homeostasia é quebrada ocorre o desenvolvimento da gengivite que pode ou não evoluir para uma periodontite (3). A gengivite caracteriza-se pela inflamação dos tecidos marginais do periodonto, sem destruição tecidual, causados pelo biofilme dental bacteriano supra gengival (4). Sob o aspecto etiopatogênico, não existem indivíduos resistentes às gengivites, desde que haja o acúmulo de biofilme por um período de tempo superior àquele que o organismo consegue suportar em homeostase. Entretanto moduladores da resposta inflamatória de natureza genética, ambiental e /ou comportamental, bem como a composição da microbiota são características que podem alterar ou contribuir o desenvolvimento das doenças periodontais (5).

### *II.1. Formação do biofilme bacteriano*

O biofilme tem a capacidade de se formar naturalmente em qualquer superfície sólida não descamativa em contato com água não esterilizada, onde macromoléculas hidrofóbicas são adsorvidas pelas superfícies, formando um filme, denominado película adquirida (6, 7, 8).

Suas funções são de hidratação, lubrificação e ação no processo de desmineralização/remineralização dental, além disso, altera a carga e a energia livre da superfície dental, aumentando a eficiência da adesão bacteriana (9). Na cavidade oral, a colonização primária é feita predominantemente por Cocos Gram-positivos anaeróbios facultativos (10).

Inicialmente, os bastonetes Gram-positivos constituem uma pequena proporção da microbiota, e posteriormente, esses organismos se multiplicam, induzindo alterações na temperatura, pH, quantidade de oxigênio e nutrientes do meio, que juntamente com seus receptores de superfícies, fímbrias e polímeros extracelulares permitem a aderência (co-agregação) subsequente de microrganismos Gram-negativos com pouca capacidade de aderir diretamente à película adquirida. Após a transição do

meio gram-positivo para o gram-negativo, o ambiente que antes era sacarolítico, se torna proteolítico com maior complexidade estrutural do biofilme.(11).

Os microorganismos do biofilme nas bolsas periodontais estão em contínuo estado de fluxo, ou seja, espécies que são relevantes em um estágio da doença podem não ser importantes em outras fases (12). Associado a essa questão, a patogenicidade dos microorganismos se relaciona mais com a capacidade inata e/ou inflamatória e/ou imune individual do hospedeiro, do que a virulência das bactérias propriamente. A degradação do tecido periodontal pode, por exemplo, resultar de enzimas microbianas que digerem diretamente o tecido, mas também de respostas do hospedeiro a essas enzimas. Além disso, as respostas teciduais destrutivas podem resultar da reação inflamatória ou imune do hospedeiro a componentes fisiológicos normais das bactérias, como os lipopolissacarídeos encontrados na membrana externa de bactérias Gram-negativas (12).

## *II.2. Etiopatogenia da gengivite*

Em exames microscópicos, mesmo em uma gengiva clinicamente sadia, estão presentes células inatas à reação inflamatória (13, 14). Esse fator ocorre, pois imediatamente após a erupção dental, a junção dento-epitelial ficar exposta ao biofilme bacteriano. A quantidade de biofilme presente nessa gengiva clinicamente saudável é compatível com saúde, entretanto quando esse acúmulo aumenta, e já não existe mais compatibilidade, surgem as alterações clinicamente observáveis como: sangramento da margem gengival ao escovar os dentes ou espontaneamente, vermelhidão, edema e mudança de textura da gengiva, podendo também ocorrer mau hálito (15). A soma de todas essas características é denominada gengivite.

A gengivite, inflamação resultante da presença de bactérias localizadas na margem gengival, pode difundir-se por toda a unidade gengival remanescente, e as intensidades dos sinais e sintomas clínicos vão variar entre indivíduos e entre sítios numa mesma dentição. Vale ressaltar que todas as suas características são reversíveis após a remoção e controle do biofilme bacteriano. (16).

Em 1976, Page & Schroeder (17) definiram quatro estágios de evolução da gengivite: *Lesão inicial*, *lesão precoce*, *lesão estabelecida* e *lesão avançada*, fundamentada em cortes histológicos obtidos através de biópsias em animais e adolescentes humanos.

A lesão inicial se desenvolve após 1 ou 2 dias de acúmulo de biofilme, e suas características compreendem: aumento da permeabilidade vascular, dilatação de veias, localização restrita ao epitélio juncional e porção coronária do tecido conjuntivo, exsudação de fluido no sulco gengival e migração de neutrófilos para a área. Durante esse estágio, não ocorrem sinais clínicos da inflamação, é somente um processo histológico. E o infiltrado inflamatório consiste 5 a 10% das células.

Na lesão precoce, os aspectos descritos na lesão inicial são acentuados: acúmulo de células linfóides, alterações nos fibroblastos e fibras colágenas. Diferente da lesão inicial, a lesão precoce é clinicamente observável, e aparece dentro de quatro a sete dias de acúmulo de biofilme.

Dentre as principais características encontradas nessa fase estão eritema, sangramento espontâneo ou por estímulo, edema, e não ocorrem mudanças na profundidade de sondagem dos sítios com lesão precoce.

O próximo estágio é nomeado lesão estabelecida, em que ainda permanecem as manifestações da lesão aguda, há predominância de plasmócitos, perda de conjuntivo, proliferação apical do epitélio juncional. O início dessa lesão se dá após duas a três semanas de acúmulo de biofilme, e recebe o nome clínico de gengivite crônica.

Lesão avançada é o último estágio, nomeado periodontite, em que há predominância de plasmócitos e células B, aumento da exsudação e infiltrado inflamatório, destruição do ligamento periodontal, destruição da crista óssea, migração apical do epitélio juncional, ulceração epitelial e consequente formação de bolsa periodontal, com supuração e perda óssea radiográfica.

A periodontite, lesão inflamatória de caráter infeccioso que ocorre quando as características patológicas da gengivite progredem até atingir os tecidos de suporte dos dentes, leva à perda de inserção conjuntiva, osso alveolar e de cemento radicular. Apresenta as mesmas características clínicas da gengivite, acrescentando perda de inserção conjuntiva, presença de bolsa periodontal e perda óssea alveolar (16).

Uma situação de periodontite é sempre precedida de gengivite. Mas quando tratada antes da sua evolução para periodontite, a gengivite não deixa sequelas nos tecidos periodontais (18,19).

## *II.2. Estudos de gengivite experimental*

Löe e seus colaboradores, em 1965, desenvolveram o estudo “Gengivite experimental em humanos”: os voluntários sucumbiram seus hábitos de higiene oral

durante 21 dias, e no final desse período observou-se que houve um rápido aumento na quantidade de biofilme e desenvolvimento de gengivite, provando que a gengivite se desenvolve em todos os indivíduos, sem exceções, com o abandono dos hábitos de higiene oral. E que com o retorno do controle diário de placa bacteriana desapareciam os sinais clínicos da inflamação gengival (20).

A partir de então, surgiram inúmeras pesquisas clínicas que seguiram o modelo da gengivite experimental em humanos.

Saglie *et. al.*; (1987) estudaram a invasão bacteriana na gengivite experimental em humanos através da obtenção de biópsias feitas nos pacientes nos intervalos de 0, 14 e 21 dias durante a formação do biofilme. No epitélio, o maior número de bactérias foi encontrado na camada externa do epitélio oral marginal, epitélio sulcular e porção apical do epitélio oral, e essa quantidade decresceu nas camadas mais profundas do tecido. Para epitélio juncional, a situação era exatamente o oposto. Contagens também significativamente maiores foram encontrados no tecido conjuntivo em comparação com o epitélio. A maior densidade bacteriana de bactérias intragingival foi associada com o maior índice gengival e de placa. Este estudo sugere que as fases iniciais da inflamação gengival pode ser mediada por invasão de bactérias (21).

Patters *et al.* (1989) demonstraram que a clivagem do complemento pode ser um importante mecanismo imunohistopatológico no desenvolvimento da inflamação gengival. Quatro estudantes de odontologia sucumbiram seus hábitos de higiene por 21 dias, e a clivagem de C3 (proteína que tem papel fundamental na ativação do Sistema Complemento pelas duas vias clássica ou alternativa); C4 (a segunda proteína sérica a ser ativada na via clássica, a sua clivagem por C1s forma C4a e C4b, que recrutarão para o local da ativação células inflamatórias e induzem a liberação de mediadores, lembrando reações de hipersensibilidade imediata); e B (protease que faz parte da C3 e C5 convertase); foi avaliada a partir do fluido gengival removido da superfície mesial de todos os pré-molares superiores aos 0, 7, 14 e 21 dias. Os indivíduos, que estavam sem placa no início do estudo, tiveram um acúmulo de placa significativa no dia 21. Aproximadamente 90% dos sítios estavam livres de inflamação clínica no início, mas a gengivite aumentou com o tempo. Sangramento à sondagem para a base da bolsa não foi observado no dia 0, mas foi observado em 62% dos sítios no dia 21. A clivagem C3 aumentou de uma média de 24% no dia 0, para 35%, 45% e depois 57% nos dias 7, 14 e 21, respectivamente, e ambos os dias 14 e 21

demonstraram significativamente maior conversão C3 do que a observada em dia 0 (22).

Bergström (1992) fez uma avaliação quantitativa da reação vascular da gengiva marginal, em resposta a formação da placa experimental em 6 alunos saudáveis. Um aumento gradual no número de terminações dos vasos foi observado ao longo do tempo de acúmulo de placa. Após a remoção da placa bacteriana e re-instituição de medidas de higiene oral, um retorno para o número pré-experimental foi observada. Durante todo o teste o número de terminações dos vasos na parte proximal-papilar da gengiva marginal foi menor do que na parte basal-labial. (23)

Griffiths et al. (1997) avaliaram a permeabilidade dos tecidos gengivais para IgM (imunoglobulina expressa na superfície das células B), durante um estudo de gengivite experimental em humanos por 28 dias, usando o protocolo de boca dividida. Os dados indicam que IgM foi detectada com maior frequência assim que a gengivite se torna evidente, concluindo-se que há um aumento da permeabilidade da gengiva em resposta ao acúmulo de placa. (24)

González et al, (2001) mediram as concentrações de interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ) e atividade elastase de neutrófilos no fluido crevicular gengival, durante a gengivite experimental em humanos, por um período de 18 dias, e concluíram que tanto IL-1 $\beta$  como a atividade da elastase dos neutrófilos mostrou um aumento considerável ao longo do estudo. (25)

Preus et al. (2008) conduziram um estudo clínico randomizado, duplo-cego, de grupos paralelos para avaliar o efeito de beta-1, 3 / 1 ,6-glucano solúvel (conhecida por melhorar a defesa da infecção causada por endotoxinas bacterianas, evitando excessiva resposta inflamatória) durante a gengivite experimental em humanos por um período de 24 dias. O fluido crevicular gengival aumentou no grupo controle e diminuiu no grupo SBG-enxague, confirmando que beta-1, 3 / 1 ,6-glucano solúvel é responsável por diminuir a resposta inflamatória (26) .

#### *II.4. Processos de defesa do hospedeiro*

Diante de uma agressão ou injúria, o hospedeiro tem dois mecanismos básicos de defesa: a resposta inflamatória e a resposta imunológica, as quais estão intimamente ligadas e interagem entre si, interagindo de forma dinâmica na patogênese da doença e juntas compreendem a “resposta do hospedeiro”.

Reações inflamatórias e imunes ao biofilme dental bacteriano que ocorrem nos tecidos gengivais agem para a proteção contra o ataque microbiano local e evitam que microorganismos ou os seus produtos sejam liberados/invadam os tecidos. Entretanto, esse processo “defensivo” pode, paradoxalmente, contribuir para a lesão tecidual observada na gengivite e periodontite (12).

Algumas moléculas e células do processo inflamatório merecem uma atenção especial por participarem ativamente da doença como proteinases, citocinas, metaloproteinases da matriz.

#### *II.4. Fatores de risco para as doenças gengivais*

É bem sedimentado pela literatura que as doenças periodontais são como doenças infecciosas de natureza episódica, causadas pelo acúmulo de biofilme dental. Sabe-se também que nem todos os indivíduos possuem o mesmo risco de desenvolver doença periodontal destrutiva a partir da gengivite, bem como os sítios de um mesmo indivíduo não são igualmente afetados pela periodontite (27). A partir destas evidências, diversos estudos buscaram identificar fatores que possibilitassem o reconhecimento de pacientes e/ou sítios com maior risco de desenvolvimento da doença. Vários estudos avaliaram associação entre biofilme supragengival/gengivite e futura perda de inserção (28, 29, 30). Esses estudos mostraram ausência de valor preditivo desses parâmetros para perda de inserção futura. Embora os dados sejam inconsistentes, ao que se refere ao valor preditivo do biofilme supragengival/gengivite à doença periodontal destrutiva, está bem estabelecido que alguns fatores podem interferir na qualidade e adequação da resposta inflamatória e do reparo dos tecidos (2). Alguns fatores têm influência local (31), outros apresentam ação sistêmica (32).

O termo fator de risco no contexto periodontal é usado quando a presença de um fator aumenta as chances de um indivíduo desenvolver a doença, ou aumenta a sua progressão (33), e diversos estudos tem demonstrado que o uso do tabaco é o maior fator de risco para a doença periodontal crônica (34, 35, 36, 37).

Ismail et al., 1983 demonstrou que existe uma relação direta entre fumantes e prevalência da doença periodontal, independente da condição de higiene oral (38). Além disso, Preber et al., 1986, verificaram que o tratamento da doença periodontal em fumantes é menos efetivo, e a recidiva da doença periodontal é maior do que em pacientes não fumantes.

Em 1994, Grossi et al., demonstrou que fumantes tem de 2-7 vezes mais chance de desenvolver doença periodontal do que os não fumantes, e posteriormente, comprovou o efeito dose-dependente do cigarro, demonstrando que quanto maior o número de cigarros consumidos por dia, maior era a perda de inserção. (39, 40)

Parar de fumar está associado com a redução dos riscos de desenvolvimento de doença periodontal, mas, no entanto, mesmo 10 anos após o fim do hábito, o risco de fumantes não declina ao mesmo risco de pessoas que nunca foram fumantes. (36) Em geral tem sido demonstrado que a perda óssea alveolar, mobilidade dental, aumento da profundidade de sondagem e perda dentária são mais severos em fumantes do que não fumantes (43) e ainda que os pacientes fumantes apresentem uma resposta menos previsível às formas cirúrgicas e não cirúrgica da terapia periodontal (44, 45, 47)

Bergström et al., em 1988 estudaram a influência do tabagismo sobre a reação vascular durante a gengivite induzida por placa em humanos por 28 dias. Dezesesseis voluntários saudáveis estudantes de Odontologia, sendo 8 fumantes e 8 não fumantes, com idades entre 19-42 anos, participaram do estudo. Verificou-se que o número de vasos identificados aumentou ao longo do tempo durante o experimento em ambos os fumantes e não fumantes. No entanto, apesar do fato de que a taxa de acúmulo de placa era igual, a reação vascular foi menos pronunciado nos fumantes. No final do experimento após 28 dias a intensidade da reação vascular em fumantes foi de apenas 50% do que a observada em não fumantes. Uma semana após o término do experimento e reinstituição de higiene oral, o número de vasos gengivais igualou aos valores pré-experimental em ambos os grupos, indicando que a reação vascular associada com a gengivite induzida por placa é suprimida em fumantes. (49)

Lie et al. (1998) estudaram a microbiota oral em fumantes e não fumantes em gengivite natural e experimentalmente induzida. No 14<sup>o</sup> dia do período experimental, o nível de formação de placa não foi diferente entre fumantes e não fumantes, mas os níveis de sangramento foram menores em fumantes do que em não fumantes (15% e 30% respectivamente). Mudanças na microbiota foram encontradas em ambos os grupos, mas o grupo de não fumantes foi subdividido em dois outros grupos: o grupo com uma resposta inflamatória “fraca” e o grupo “forte”, mas essa diferença não pode ser explicada por alguma relação com alguma espécie bacteriana presente no biofilme, portanto, concluiu-se que as diferenças na resposta a gengivite experiemntal não são causadas por diferenças na composição da microbiota. (44)

Danielsen et. al., (1990) avaliaram o efeito do tabagismo sobre a dinâmica de transição na gengivite experimental. No exame inicial, não houve diferença entre a avaliação clínica de placa e condição gengival em fumantes e não fumantes. Quantidades semelhantes de placa bacteriana foram acumuladas nos dois grupos durante o período de não higiene oral, mas os fumantes apresentaram inflamação gengival avaliada clinicamente menor do que os não fumantes. Esta diferença ocorreu como resultado de uma taxa de incidência aparentemente rebaixada e uma taxa de recuperação significativamente maior em fumantes em comparação aos não fumantes. Esses achados podem indicar que os fumantes, por motivos ainda desconhecidos têm uma capacidade reduzida para montar e manter uma reação de defesa eficaz para um desafio dado pelo biofilme. (48)

Teughels et. al., (2005) avaliaram a influência da nicotina e cotinina sobre a colonização epitelial por periodontopatógenos, e concluíram que a susceptibilidade de células epiteliais para tornar-se colonizadas por *A. actinomycetemcomitans* ou *P. gingivalis*, bactérias consideradas periodontopatógenas, pode ser alterado pela nicotina, cotinina, ou em um tempo-dependente, a maneira específica da espécie. Entretanto ainda precisa ser comprovado se esses achados, que suportam a hipótese se uma susceptibilidade aumentada para adesão bacteriana às células epiteliais em pacientes fumantes, são clinicamente relevantes. (36)

O efeito do tabagismo no perfil de citocinas no fluido gengival crevicular durante a gengivite experimental foi avaliado por Giannopoulou e colaboradores, em 2003. Quantidade total de IL-1beta, IL-4 e IL-8 foram determinados em todos os voluntários, e os dados clínicos revelaram que ambos os fumantes e não fumantes apresentaram um aumento nos níveis de índice de placa, índice gengival e sangramento a sondagem durante o experimento. Não fumantes apresentaram maior quantidade total de IL-4, mas menores quantidades de IL-8 do que os fumantes, durante todo o experimento. A quantidade total de IL-1beta e IL-8 aumentou significativamente durante o acúmulo de placa nos dois grupos. IL-4 manteve-se estável para o grupo de fumantes e diminuiu para o grupo de não fumante, indicando que o fumo interfere com a produção de citocinas. (50)

O fluxograma da evidência do papel do biofilme bacteriano supragengival se completa na medida em que, tanto sob aspectos preventivos como terapêuticos, o controle do biofilme gera a manutenção ou o retorno a características de saúde

gingival (51). É importante ressaltar que moduladores de resposta inflamatória de natureza, hormonal, comportamental, genética, etc. também contribuem para o curso das gengivites, sendo importantes de serem considerados na etiopatogenia e, conseqüentemente, na abordagem clínica dos pacientes (5).

### *III- PROPOSIÇÃO*

Avaliar os parâmetros clínicos em indivíduos fumantes e não fumantes durante o desenvolvimento da gengivite experimental localizada.

## IV. MATERIAIS E MÉTODOS

### IV.1. SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Após envio e aprovação do presente estudo para o Comitê de ética em pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP foram selecionados dentre os alunos e funcionários da FOP-UNICAMP 28 pacientes, sendo 14 fumantes e 14 não fumantes, seguindo os seguintes critérios de inclusão:

- \*Pacientes sem condição de periodontite prévia ou atual
- \* Consentimento formal para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios por indivíduo não envolvido na mesma. (Resolução n 196 de outubro de 1996 e o Código de Ética Profissional Odontológico (C.F.O.) 179/93).
- \*Idade entre 18 – 30 anos

Os critérios de exclusão foram:

- \*Uso de aparelho ortodôntico
- \*Presença de alterações sistêmicas
- \*Uso de antibiótico nos seis meses anteriores ao estudo
- \*Presença de restaurações cervicais no quadrante a ser usado

### IV.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO

O delineamento experimental é longitudinal, e o tratamento foi o mesmo para todos os pacientes.

Os pacientes selecionados foram divididos em dois grupos:

Grupo F: indivíduos Fumantes (14)

Grupo NF: indivíduos Não fumantes (14)

### IV.3. PLANO DE PESQUISA

Exame inicial: Seleção dos 28 pacientes de acordo com os critérios pré-estabelecidos

Período preparatório: Todos os pacientes foram instruídos sobre as causas e consequências da gengivite, bem como técnicas de escovação sulcular e uso de fio dental. Receberam um kit contendo escova dental e dentifrício padronizados. Nesse

período os pacientes também passaram por um intenso controle de biofilme até que não tivesse nenhum sítio da boca com placa ou sangramento visível.

Além disso, os pacientes tiveram a arcada inferior moldada para a confecção de “stents” com placas de acrílico de 1 mm de espessura em plastificador a vácuo, que atingiram incisivo lateral inferior ao segundo molar inferior do mesmo lado, e foi usada somente durante a escovação dental.

Período de não controle de placa: Gengivite experimental. Esse período da pesquisa teve duração de 21 dias, em que os pacientes usaram o “stent” entregue no baseline somente durante a escovação dental, para evitar o contato da escova com os dentes acima especificados.

Período de controle de placa: Após os 21 dias os pacientes tiveram a higiene bucal restabelecida e monitorada até que haja saúde gengival novamente.

#### IV.4. AVALIAÇÕES

Foram feitas avaliações clínicas e coleta de fluído crevicular gengival, para posteriores análises laboratoriais, antes do tratamento (-14 dias), no baseline, 5, 7, 14 e 21 dias após o início, sendo sempre realizadas por um examinador calibrado. A primeira coleta foi feita em quatro sítios escolhidos de forma randomizada, de cada voluntário. Após a primeira coleta, os sítios selecionados foram alternados, a fim de que o crescimento/evolução do biofilme não fosse prejudicado pela coleta.

##### IV.4.1-Avaliações clínicas:

Os parâmetros clínicos avaliados foram:

a-) índice de Placa – IP (Ainamo e Bay, 1975): Avaliação da presença/ausência de placa num padrão binominal. Número de faces envolvidas com placa dividido pelo número de faces presentes em todos os dentes do paciente

0 – Ausência de placa      1 – Presença de placa visível

b-) Sangramento a sondagem – SS (Muhlemann e Son, 1971): padrão dicotômico

0 – Ausência de sangramento      1 – Presença de sangramento

c-) Profundidade de Sondagem – PS: distância da margem gengival à base, clinicamente detectável, da bolsa periodontal.

Todos os parâmetros clínicos foram obtidos utilizando uma sonda periodontal do tipo Carolina do Norte, antes do início da pesquisa (-14 dias) e nos dias 0, 5, 7, 14 e 21

dias; e 7 dias após o término da pesquisa, com o objetivo de avaliar o reestabelecimento da saúde gengival.

#### *IV.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS*

Após obtenção das médias para cada parâmetro dentro de cada grupo estas foram comparados estatisticamente.

O teste Kolmogorov-Smirnov foi utilizado, a fim de verificar a normalidade dos dados. As comparações das medidas (IP e SG) intragrupo, foram realizadas por meio do teste não-paramétrico de Friedman entre as médias.

Para comparações intergrupos, dentro de cada tempo, foram realizadas por meio do teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Para a análise do FCG foi utilizado teste t não pareado para comparar F e NF e Anova/Tukey para as comparações intragrupo. Para todas as análises, foi estabelecido um nível de significância de 5% e os dados foram analisados usando o software SAS e BioEstat 4.0.

## V-RESULTADOS

### ÍNDICE DE PLACA

- Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos F e NF em nenhum dos tempos
- Aos 21 dias, houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,005$ ) entre F e NF, o que significa que foi alcançado o objetivo de acumular placa na região.
- Aos 28 dias, houve o retorno aos valores iniciais, resultando em saúde gengival, sem acúmulo de biofilme (Tabela 1).

Tabela 1. Médias ( $\pm$  desvio padrão) do índice de placa de fumantes e não fumantes, nos tempos -14, 0, 21 e 28 dias.

Tempo	IP	
	Não fumante	Fumante
(-)14 dias	3,44 $\pm$ 4,29 B	3,29 $\pm$ 3,03 B
0	0 $\pm$ 0 B	0 $\pm$ 0 B
21 dias	72,32 $\pm$ 28,54 A	67,53 $\pm$ 32,23 A
28 dias	0,51 $\pm$ 1,84 B	0 $\pm$ 0 B

Letras maiúsculas diferentes representaam diferenças estatísticas entre os tempos (Mann-Whitney,  $\alpha = 0,005$ )

## ÍNDICE DE SANGRAMENTO GENGIVAL

- Diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os grupos F e NF , com 21 dias.
- Aos 21 dias, houve diferença estatisticamente significativa em relação aos tempos, em ambos os grupos (Fumantes e Não fumantes), o que significa que conseguimos atingir o objetivo de criar uma região com gengivite experimental, e consequente aumento no índice de sangramento gengival
- Aos 28 dias, houve o retorno aos valores iniciais, resultando na volta a saúde gengival, sem sangramento a sondagem

Tabela 2. Médias ( $\pm$  desvio padrão) do índice de sangramento gengival de fumantes e não fumantes, nos tempos -14, 0, 21 e 28 dias.

	ISG	ISG	
	Não fumante	Fumante	
(-)14 dias	1,66 $\pm$ 2,38 B	1,30 $\pm$ 1,54 B	
0	0 $\pm$ 0 B	0 $\pm$ 0 B	
21 dias	62,11 $\pm$ 39,76 * A	8,76 $\pm$ 3,84 A	* p=0,0012
28 dias	0 $\pm$ 0 B	0 $\pm$ 0 B	

Letras maiúsculas diferentes representas diferenças estatísticas entre os tempos (Mann-Whitney,  $\alpha = 0,005$ ); \* representa diferença estatística entre os grupos, no mesmo tempo (teste t,  $\alpha = 0,005$ )

## FLUIDO CREVICULAR GENGIVAL

- Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos F e NF , após o tempo 0.
- Aos 21 dias, houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,005$ ) entre F e NF, comparado com o tempo 0.
- Aos 28 dias, houve o retorno aos valores iniciais, resultando em saúde gengival. (Tabela 3).

Tabela 3. Médias ( $\pm$  desvio padrão) do volume de fluido crevicular gengival de fumantes e não fumantes, nos tempos -14, 0, 21 e 28 dias

	FCG	FCG	
	Não fumante	Fumante	
(-)14 dias	79,96 $\pm$ 44,72* A	42,45 $\pm$ 13,16 B	*p= 0,03
0	38,79 $\pm$ 21,29 B	43,68 $\pm$ 16,39 B	
21 dias	75,93 $\pm$ 28,10 A	81,45 $\pm$ 29,63 A	
28 dias	34,46 $\pm$ 15,67 B	26,68 $\pm$ 7,92 B	

Letras maiúsculas diferentes representam diferenças estatísticas entre os tempos (Mann-Whitney,  $\alpha = 0,005$ ); \* representa diferença estatística entre os grupos, no mesmo tempo (teste t,  $\alpha = 0,005$ )

## VI – DISCUSSÃO

De acordo com os resultados deste estudo, verificou-se que, em relação à higiene bucal, comparando os pacientes fumantes com aqueles não fumantes, não houve diferença estatisticamente significativa, estando de acordo com os resultados apresentados por MacGregors (52), mas discordando dos achados de Jeuken (53) et al que encontraram maior acúmulo de biofilme em pacientes fumantes que nos não fumantes.

No que diz respeito à intensidade da gengivite, o estudo de Goultschin et al.(1990) revelou que os indivíduos fumantes apresentam uma menor inflamação gengival e um menor sangramento à sondagem do que os não fumantes (54). Em outro momento, Bergstrom e Preber (1992) também demonstraram que a resposta inflamatória ao acúmulo de biofilme dental, durante uma gengivite experimental, pode ser diminuída pelo fumo. Os resultados acima estão de acordo com o presente estudo, onde foi observado que aos 21 dias de acúmulo de biofilme houve uma diferença estatisticamente significativa entre fumantes e não fumantes, sendo que o índice de sangramento gengival foi maior para os fumantes(55).

Em relação a quantidade de fluido crevicular, neste estudo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos fumantes e não fumantes, mas em relação aos tempos, houve um aumento de fluido aos 21 dias de acúmulo de biofilme, tanto no grupo de fumantes quanto no grupo dos não fumantes.

Foi avaliado que sulcos rasos de indivíduos saudáveis têm taxa de fluxo do FGC de 3-8 mL/h. Bolsas com doença periodontal intermediária têm taxa de fluxo do FGC de aproximadamente 20mL/hora. O fluxo de FGC em sítio com doença periodontal avançada possui taxas tão altas quanto 137mL/hora. As evidências de estudos de gengivite experimental mostram que o fluxo de FGC pode aumentar drasticamente sem que ocorram outras mudanças clínicas, concordando com os resultados neste trabalho obtidos, de que há um aumento na secreção de fluido sulcular, comparando uma gengiva saudável com uma gengiva inflamada. (56-58).

A análise do FGC em indivíduos fumantes, também foi o objetivo de Morozumi *et al.*, no estudo que desenvolveram em 2004, no qual observaram que o volume do FGC era insignificativamente menor em indivíduos fumantes e que, após uma semana de interrupção do fumo, já se apresentava significativamente maior que no exame inicial;

após duas semanas, apresentava-se sem diferença estatística em relação aos indivíduos não fumantes (59)

A redução no fluxo sanguíneo da gengiva estaria relacionada à redução do volume do fluido crevicular gengival observada em fumantes quando comparado à não-fumantes (60). Em um estudo em adultos jovens, foi proposto que o fumo poderia afetar o fluido crevicular gengival (FCG) através da ativação da liberação, por parte dos neutrófilos, de enzimas proteolíticas como a colagenase ou elastase, ou através da atividade de proteases inibidoras como a anti-tripsina oc 1 e macroglobulina oc2 (61). No entanto, outros estudos mostraram que, apesar de haver a redução do volume do FCG nos fumantes, este não apresentava diferença quanto ao grau de atividade da elastase e à concentração de proteases inibitórias (62).

Em um estudo com 32 adultos portadores de periodontite de moderada à severa foi mostrado que tanto o volume total quanto à concentração de macroglobulinas foram menores em fumantes. Porém, esta diferença foi notada apenas nos pacientes com lesões severas sendo que o nível da elastase e da lactoferrina não apresentou diferença estatisticamente significativa (63).

Aos 28 dias, em ambos os grupos, fumantes e não fumantes, e em todas as análises (índice de placa, índice de sangramento e fluido crevicular gengival), houve uma remissão dos sinais clínicos de inflamação (observados no dia 21) ou seja, resolução da gengivite experimental, o que mostra que com 7 dias de retorno dos hábitos de higiene oral, conseguimos uma remissão da gengivite experimental anteriormente instalada. Resultado semelhante foi observado no estudo de Løe e colaboradores, em 1965, nomeado “Gengivite experimental em humanos”, em que todos os voluntários voltaram a ter saúde gengival após retomar os hábitos de higiene.(20)

Considerando os achados deste experimento, recomenda-se um controle rigoroso da higiene bucal tanto em indivíduos fumantes como não fumantes, diante da evidência do acúmulo de biofilme modificar a resposta inflamatória dos tecidos gengivais. Além disso, esforços devem ser direcionados para que os indivíduos fumantes sejam motivados a abandonar o hábito.

## VII. CONCLUSÃO

Desta forma, conclui-se que o fumo foi capaz de alterar a resposta inflamatória dos indivíduos fumantes durante a GEL, proporcionando menos sangramento gengival.

## VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-) LÖE H, THEILADE E, JENSEN SB. Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.* 1965; 36:177-87.
- 2-) LINDHE J.; HAMP, S.E.;, LÖE, H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodont Res*, v. 14, n. 4, p. 297-309, 1973.
- 3-) LANG NP; SCHATZLE MA; LOE H. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. *J ClinPeriodontol* 2009: (Suppl. 10): 3–8.
- 4-) ARMITAGE, GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4:1-6
- 5-) PAGE RC, KORNMANN KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000, 1997;14:9-11
- 6-) DONLAN R. M.; COSTERTON J. W. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms *Clinical Microbiology Reviews*, April 2002, p. 167-193, Vol 15, No. 2
- 7-) COSTERTON, J. W., STEWART P. S.; GREENBERG E. P.. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284:1318–1322.
- 8-) COSTERTON, J. W., GEESEY G. G.; CHENG G. K. How bacteria stick. 1978 *Sci. Am.* 238:86–95.
- 9-) MARSHALL, K. C. Biofilms: an overview of bacterial adhesion, activity and control at surfaces. *American Society of Microbiology News*, n. 58, p. 202-207, 1992
- 10-) COLE, M. F. et al. Humoral immunity to commensal oral bacteria in human infants: salivary secretory immunoglobulin A antibodies reactive with *Streptococcus mitis* biovar 1, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, and *Enterococcus faecalis* during the first two years of life. *Infect. Immun.*, n. 67, p. 1878-1886, 1999
- 11-) JENKINSON, H. F. Adherence and accumulation of oral streptococci. *Trends Microbiol.*, n. 2, p. 209-212, 1994.
- 12-) KINANE KF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000; 2001; 25: 8-20.
- 13-) PAYNE, W. A.; PAGE, R. C.; OGILVIE, A. L.; HALL, W. B. Histopatologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J. Periodont. Res.*,10:51-64, 1975

- 14-) SCHROEDER, H. E. Quantitative parameters of early human gingival inflammation. *Archs oral Biol.*, 15: 383-400, 1970
- 15-) KUNERT, I. R; ROSA, R.O. Higiene oral e doença periodontal. ABC Saúde, 2006.
- 16-) AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontol.* v. 4, n. 1, p. 8-38, 1999.
- 17-) PAGE, R. C. & SCHROEDER, H. pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.*, 33: 215-49, 1976
- 18-) NYVAD, B.; KILLIAN, M. Comparison of initial streptococcal microflora on dental enamel. *Caries Res.*, n. 24, p. 267-272, 1990.
- 19-) MOORE, L. V. H. et al. Bacteriology of human gingivitis. *J. Dent. Res.*, v. 66, n. 5, p. 989-995, 1987.
- 20-) LOE H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*, Indianapolis, v. 36, p. 177-187, 1965.
- 21-) SAGLIE F R, et. Al. Bacterial invasion in experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1987 December; 58(12): 837–846.
- 22-) PATTERS M R, NIEKRASH C E; LANG N P. Assessment of complement cleavage in gingival fluid during experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol.* 1989 January; 16(1): 33–37.
- 23-) BERGSTRÖM, J. (1992), Vascular reaction in plaque-induced gingivitis: A quantitative approach. *Journal of Periodontal Research*, 27: 604–608.
- 24-) GRIFFITHS GS, WILTON JM, CURTIS MA. *Arch Oral Biol.* 1997 Feb;42(2):129-36. Permeability of the gingival tissues to IgM during an experimental gingivitis study in man.
- 25-) GONZÁLES, J. R., HERRMANN, J. M., BOEDEKER, R. H., FRAN CZ, P. I., BIESALSKI, H. AND MEYLE, J. (2001), Concentration of interleukin-1 $\beta$  and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 28: 544–549.
- 26-) PREUS, H. R., AASS, A. M., HANSEN, B. F., MOE, B. AND GJERMO, P. (2008), A randomized, single-blind, parallel-group clinical study to evaluate the effect of soluble  $\beta$ -1,3/1,6-glucan on experimental gingivitis in man. *Journal of Clinical Periodontology*, 35: 236–241

27-) BECK, J.D. Risk revised. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 26, n.4, p. 220-225, 1998

28-) LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S.B. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderated and no loss of attachment in Sri Lanka laborers. **J Clin Periodontol**, v. 13, n. 5, p. 431-440, 1986

29-) CLAFFEY, N.; EGELBERG, J. Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontites patients. **J Clin Periodontol**, v. 22, p. 690-696, 1995

30-) ALBANDAR, J.M. Global risk factors and global risk indicators for periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v. 29, p. 177-206, 2002

31-) COTRAN RS, KUNAR V, COLLINS. Reparo dos tecidos: crescimento celular, fibrose e cicatrização de feridas. In: Cotran RS, Kunar V, Collins, editores. Robbins patologia estrutural e funcional. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.p.80-100

32-) KORNMAN KS, ROBERTSON PB. Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions. **Periodontol 2000**. 2000 Feb;22:22-43

33-) NEWMAN, M. G. et. Al., Associatiol of clinical risk factors with treatment outcomes. **J. Periodontol**. V.65, p. 489-497, 1994

34-) PREBER H, KANT T. Effect of tabacco-smoking on periodontal tissue of 15 year-old schoolchildren. **J. Periodontal res**. 1973; 8(5): 278-83

35-) PREBER H, BERGSTROM J. Cigarette Smoking in patients referred for periodontal treatment. **Scand J. Dent Res**. 1986 Apr, 94(2): 102-8

36-) BERGSTROM J, PREBER H. Tobacco use as a risk factor. **J. Periodontol**. 1994 May; 65(5 Suppl): 545-50

37-) PETERSEN P.E. Tobacco and oral health – the role of the world health organization. **Oral Health Prev. Dent**. 2003; 1(4): 309-15

38-) ISMAIL AI, BURT BA, EKLUND SA. Epidemiologic patterns of 16. smoking and periodontal disease in the United States. **J Am Dent Assoc**. 1983 May; 106(5): 617-21

39-) GROSSI, S. G. et. Al. (1995) Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. **Journal of Periodontology** 66, 23–29.

40-) GROSSI, S. G. ET. AL. (1994) Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. **Journal of Periodontology** 65, 260–267.

- 41-) PREBER H, BERGSTRÖM J. Cigarette smoking in patients referred 2. for periodontal treatment. Scand J Dent Res. 1986 Apr; 94(2): 102-8.
- 42-) STOLTENBERG, J. L., ET. AL. (1993) Association
- 43-) KALDAHL WB, KALKWARF KL, PATIL KD, MOLVAR MP, DYER JK. 21. Long-term evaluation of periodontal therapy: II. Incidence of sites breaking down. J Periodontol. 1996 Feb; 67(2): 103-
- 44-) KALDAHL WB, KALKWARF KL, PATIL KD, MOLVAR MP, DYER JK. 21. Long-term evaluation of periodontal therapy: II. Incidence of sites breaking down. J Periodontol. 1996 Feb; 67(2): 103-8.
- 45-) PREBER H, BERGSTRÖM J. Cigarette smoking in patients referred 2. for periodontal treatment. Scand J Dent Res. 1986 Apr; 94(2): 102-8.
- 46-) LIE, M. A., et. Al. (1998), Oral microbiota in smokers and non-smokers in natural and experimentally-induced gingivitis. Journal of Clinical Periodontology, 25: 677–686.
- 47-) TEUGHELIS W. et al., Influence of Nicotine and Cotinine on Epithelial Colonization by Periodontopathogens. Journal of Periodontology 2005 Aug;76(8):1315-22.
- 48-) DANIELSEN, B., MANJI, F., NAGELKERKE, N., FEJERSKOV, O. AND BAELUM, V. (1990), Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. Journal of Clinical Periodontology, 17: 159–164.
- 49-) BERGSTRÖM J, PERSSON L, PREBER H Scand J Dent Res. 1988 Feb;96(1):34-9. Influence of cigarette smoking on vascular reaction during experimental gingivitis.. Source Department of Periodontology, School of Dentistry, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.
- 50-) GIANNOPOULOU, C., CAPPUYNS, I. AND MOMBELLI, A. (2003), Effect of smoking on gingival crevicular fluid cytokine profile during experimental gingivitis. Journal of Clinical Periodontology, 30: 996–1002.
- 51-) LÖE H, THEILADE E, JENSEN SB. Experimental gingivitis in man. J. Periodontol. 1965; 36:177-87.
- 52-) MacGregor IDM. Toothbrushing efficiency in smokers and 5. non-smokers. J Clin Periodontol. 1984; 11(5): 313-20.

- 53-) Jeuken IMM, Nogueira FGR, Nociti JEAS, Sallum AW. Avaliação do índice gengival e do nível de inserção clínica em fumantes e não fumantes portadores de doença periodontal. *Revista Periodontia*.1999; 8(1).
- 54-) Goultschin J, Cohen HD, Donchin M, Brayer L, Soskolne WA. Association of smoking with periodontal treatment needs. *J Periodontol* 1990; 61(6): 364-7.
- 55-) Bergstron J, Preber H. The influence of cigarette smoking on the development of experimental gingivitis. *J Periodont Res* 1992; 21(6): 668-76.
- 56-) Ceschin A, Pallos D, Victor GA, Jardim, JCM, Quirino, MRS. Avaliação dos níveis de Interleucina 1b em mulheres na menopausa com doença periodontal. *Rev APCD*. 2005; 59(1):29-34.
- 57-) Darany DG, Beck FM, Walters JD. The relationship of gingival fluid leukocyte elastase activity to gingival fluid flow rate. *J Periodontol*. 1992; 63(9):743–7.
- 58-) Fine DH, Mandel ID. Indicators of periodontal disease activity: an evaluation. *J Clin Periodontol*. 1986; 13(5): 533-46.
- 59-) Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2004; 31(4): 267-72.
- 60-) Kinane DF, Radvar M. The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *J Periodontol*1997;68:467-472.
- 61-) Rivera-Hidalgo F.Smoking and periodontal disease. *Periodontol* 2000 2003;32;50- 58.
- 62-) Persson L, Bergstrom J, Gustafsson A, Asman B. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *J Clin Periodontol*1999;26;9-13.
- 63-). Persson L, Bergstrom J, Ito H, Gustafsson A, Asman B. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 2001 :72;90-95.

*ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO*



## **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Título do projeto da Pesquisa:** “AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS, INFLAMATÓRIOS E MICROBIOLÓGICOS EM INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES NO DESENVOLVIMENTO DA GENGIVITE EXPERIMENTAL LOCALIZADA.”

As informações presentes neste termo foram fornecidas por Julia Helena Gimenes (aluna de Especialização em Periodontia e Executora do projeto), pelo Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior (Orientador), Prof. Dra. Daiane Peruzzo e Prof. Dr. Marcio Zaffalon Casati. O objetivo deste termo é de lhe dar as informações necessárias para que você possa decidir se deseja ou não participar desta pesquisa. Por favor, leia este Termo de Consentimento com bastante atenção. Se ainda restar alguma dúvida, você pode fazer perguntas que serão esclarecidas, e a partir de então a decisão sobre a participação da pesquisa poderá ser tomada. Você também receberá uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

1. **Justificativa:** O estudo dos parâmetros clínicos, inflamatórios e microbiológicos em indivíduos fumantes e não fumantes durante o desenvolvimento da gengivite experimental localizada é de relevância para a área, já que ainda não se sabe ao certo as diferenças dos mecanismos de transição da saúde pra um quadro de gengivite, em indivíduos saudáveis fumantes e não fumantes, e também, o tratamento dos pacientes fumantes constitui-se como um significativo desafio para o periodontista.
2. **Objetivos:** Esta pesquisa pretende avaliar os parâmetros clínicos, inflamatórios e microbiológicos em indivíduos fumantes e não fumantes no desenvolvimento da gengivite experimental localizada.

**Metodologia:** Serão selecionados dentre os alunos e funcionários da FOP-UNICAMP 40 pacientes, sendo 20 fumantes e 20 não fumantes, seguindo os seguintes critérios de inclusão:

- \*Pacientes sem condição de periodontite prévia ou atual
- \* Consentimento formal para a participação na pesquisa, após a explicação dos riscos e benefícios por indivíduo não envolvido na mesma. (Resolução n 196 de outubro de 1996 e o Código de Ética Profissional Odontológico (C.F.O.) 179/93).
- \*Idade entre 18 – 30 anos

Os critérios de exclusão serão:

- \*Uso de aparelho ortodôntico
- \*Presença de alterações sistêmicas
- \*Uso de antibiótico nos seis meses anteriores ao estudo
- \*Presença de restaurações cervicais no quadrante a ser usado

- *Delineamento*

O delineamento do estudo experimental é longitudinal, e o tratamento será o mesmo para todos os pacientes, não existindo um grupo placebo.

Os pacientes selecionados serão divididos em dois grupos:

Grupo A: Fumantes (20)

Grupo B: Não fumantes (20)

- *Plano de pesquisa*

Exame inicial: Seleção dos 40 pacientes de acordo com os critérios pré-estabelecidos

Período preparatório: Todos os pacientes serão instruídos sobre as causas e consequências da gengivite, bem como técnicas de escovação sulcular e uso de fio dental. Receberão um kit contendo escova dental e dentífrico. Nesse período os pacientes também passarão por um intenso controle de biofilme até que não haja nenhum sítio da boca com placa ou sangramento visível.

Além disso, os pacientes terão a arcada inferior moldada para a confecção de “stents” com placas de acrílico de 1 mm de espessura em plastificador a vácuo, que atingirá incisivo lateral inferior ao segundo molar inferior do mesmo lado, e será usada somente durante a escovação dental.

Período de não controle de placa: Gengivite experimental. Esse período da pesquisa tem duração de 21 dias, em que os pacientes deverão usar o “stent” entregue no

baseline somente durante a escovação dental, para evitar o contato da escova com os dentes acima especificados.

Período de controle de placa: Após os 21 dias os pacientes terão a higiene bucal restabelecida e monitorada até que haja saúde gengival novamente.

- *Avaliações*

Serão feitas avaliações clínicas e coleta de fluído crevicular para posteriores análises microbiológicas antes do tratamento, no baseline, 2, 5, 7, 14 e 21 dias após o início, sendo sempre realizadas por um examinador calibrado. A coleta será feita em oito sítios escolhidos de forma randomizada, de cada voluntário, sendo que quatro serão coletados da área com saúde e os outros quatro da área em que foi induzida a gengivite. Mantendo sempre os mesmos sítios ao longo do estudo.

Não existem outros métodos alternativos para a obtenção dos resultados desejados com esta pesquisa.

**3. Desconforto ou risco esperado:** No presente projeto o voluntário talvez sinta um leve desconforto, já que a gengivite produz algumas alterações nas características da gengiva marginal. No entanto, não há risco previsível, já que a gengivite é uma alteração reversível após a remoção dos fatores etiológicos, que será feita após 21 dias de acúmulo de biofilme, período o qual não é suficiente para causar alterações na inserção conjuntiva. Qualquer dúvida sobre algum desconforto sentido no decorrer da pesquisa, você deve entrar em contato com a aluna Julia Helena Gimenes pelo telefone (019) 91363625.

**4. Benefícios esperados:** De acordo com os resultados esperados, a participação da pesquisa irá trazer benefícios á população em geral, trazendo mais conhecimento sobre as diferenças dos mecanismos inflamatórios e imunológicos que ocorrem em pacientes fumantes para os cirurgiões dentistas, podendo trazer contribuições até na maneira como tais são atendidos na periodontia, já que o tratamento dos mesmos é um desafio para a área, e ainda restam muitas dúvidas que precisam ser esclarecidas. Além disso, todos os voluntários receberão escova e dentifrícios personalizados, orientação de higiene oral e raspagem supra gengival antes do início e após o término da pesquisa.

5. **Direitos dos voluntários:** Todos os voluntários receberão esclarecimentos sobre todos os passos do tratamento a ser empregado antes e durante a pesquisa. Além disso, todos os voluntários têm total liberdade de não aceitar a participação ou desistir de participar em qualquer fase da pesquisa, sem penalidade alguma e sem prejuízo ao seu cuidado. Os dados coletados e as informações pessoais são confidenciais, para assegurar a privacidade dos participantes.

6. **Ressarcimento de despesas e formas de indenização:** Não haverá gastos para os voluntários. Os possíveis gastos com o uso de materiais e equipamentos serão de responsabilidade do pesquisador responsável. Os voluntários receberão gratuitamente um conjunto com os utensílios necessários para o cumprimento do protocolo da pesquisa.

7. **Consentimento formal para participação em pesquisas clínica**

Através deste documento, declaro para efeitos éticos e legais, que eu, \_\_\_\_\_, natural de \_\_\_\_\_, Profissão: \_\_\_\_\_, portador do RG \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, residente à \_\_\_\_\_, na cidade de \_\_\_\_\_, Estado \_\_\_\_\_, concordo com absoluta consciência dos procedimentos a que vou me submeter para realização deste trabalho, nos termos relacionados nos itens anteriores. Esclareço ainda que este consentimento não desobriga a responsabilidade do profissional que executará os procedimentos clínicos. Por estar de acordo com o teor do presente termo, assino abaixo o mesmo. Piracicaba, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2011.

---

Assinatura do participante

---

RG e CPF do participante

---

Assinatura do pesquisador responsável e data

**ATENÇÃO:** sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Qualquer dúvida quanto aos seus direitos como voluntário da pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP: Av. Limeira 901 FOP-UNICAMP, CEP 13414-903, Piracicaba – SP. Fone/Fax: (19) 2106. 5349.

Endereço eletrônico: [cep@fop.unicamp.br](mailto:cep@fop.unicamp.br) ou no Website: [www.fop.unicamp.br/cep](http://www.fop.unicamp.br/cep)

*ANEXO II* – CERTIFICADO DO COMITE DE ÉTICA



**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 "**Avaliação dos parâmetros clínicos, imuno-inflamatórios e microbiológicos em indivíduos fumantes e não fumantes no desenvolvimento da gengivite experimental localizada**", protocolo nº 121/2011, dos pesquisadores Julia Helena Gimenes e Francisco Humberto Nociti Junior, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 21/03/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State [University](#) of Campinas, certify that the project "**Evaluation of clinical, inflammatory and microbiological parameters in smokers and nonsmokers during the development of localized experimental gingivitis**", register number 121/2011, of Julia Helena Gimenes and Francisco Humberto Nociti Junior, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 03/21/2012.

**Profª. Dra. Lívia Maria Andaló Tenuta**

Secretária

CEP/FOP/UNICAMP

**Prof. Dr. Jacks Jorge Junior**

Coordenador

CEP/FOP/UNICAMP

## ANEXO III- CURRICULO VITAE DOS PESQUISADORES

- *Pesquisador responsável*

<http://lattes.cnpq.br/4958803638639576> (Julia Helena Gimenes)

- *Demais pesquisadores*

<http://lattes.cnpq.br/7924462970492160> (Daiane Cristina Peruzzo)

<http://lattes.cnpq.br/6144473413005286> (Francisco Humberto Nociti Junior)

<http://lattes.cnpq.br/9919393751507518> (Marcio Zaffalon Casati)