

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Taís Browne de Miranda

**RESPOSTA DA TERAPIA PERIODONTAL *ONE-STAGE*
FULL-MOUTH DISINFECTION EM INDIVÍDUOS OBESOS:
ensaio clínico paralelo**

Taubaté-SP

2017

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Taís Browne de Miranda

**RESPOSTA DA TERAPIA PERIODONTAL *ONE-STAGE*
FULL-MOUTH DISINFECTION EM INDIVÍDUOS OBESOS:
ensaio clínico paralelo**

Trabalho de Dissertação apresentado para obtenção do Título de Mestre pelo Curso de Odontologia do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Cortelli.

Taubaté-SP

2017

Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBi/UNITAU
Biblioteca Setorial de Odontologia

M672r Miranda, Taís Browne de
Resposta da terapia periodontal one-stage full-mouth
disinfection em indivíduos obesos: ensaio clínico paralelo /
Taís Browne de Miranda. - 2017.
65 f.: il.

Tese (mestrado) - Universidade de Taubaté,
Departamento de Odontologia, 2017.
Orientação: Prof. Dr. José Roberto Cortelli, Departamento
de Odontologia.

1. Periodontite. 2. Bactérias. 3. Obesidade. 4. Terapia. 5.
Reação em cadeia da polimerase. I. Título.

Comissão Julgadora

Data: 26 de maio de 2017

Resultado: Aprovado

Prof. Dr. José Roberto Cortelli

Assinatura: [Assinatura]

Prof. Dr. Davi Romeiro Aquino

Assinatura: [Assinatura]

Prof. Dr. Caio Vinicius Gonçalves Roman Torres

Assinatura: [Assinatura]

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de estudos (nº do processo 2015/02995-5).

Ao meu orientador Prof. Dr. José Roberto Cortelli pela oportunidade, confiança, contribuição, incentivo, paciência e apoio. Pela condução do estudo suportado pela FAPESP.

À Profa. Dra. Sheila Cavalca Cortelli que sempre se disponibilizou em me ajudar e sempre o fez com muito carinho e atenção. Por toda ajuda no desenvolvimento deste estudo.

Ao Prof. Dr. Davi Romeiro Aquino, pois foi você que me proporcionou o primeiro contato com a Biologia Molecular, que amo tanto hoje em dia. Também por toda ajuda no desenvolvimento deste estudo.

Ao Dr. Felipe Peralta por todo apoio clínico e conhecimentos passados. Um ótimo parceiro.

À Universidade de Taubaté e aos coordenadores e professores do Programa de Mestrado e Doutorado em Odontologia pelo aprendizado transmitido.

Gostaria de agradecer aos meus pais, Hernani e Cláudia, e ao meu irmão, Vinícius, que sempre estiveram ao meu lado e batalharam junto comigo para eu chegar até aqui. Agradeço todo o amor, carinho e apoio que me deram.

Agradeço aos meus familiares que sempre me incentivaram.

Ao meu namorado, João, que foi muito importante nesse período em que me ajudou, me acalmou e me tranquilizou quando necessário.

Agradeço aos estagiários do laboratório CEPEO pela dedicação e por aceitarem receber meus conhecimentos, que são passados com carinho e dedicação.

Aos colegas de turma, pois nosso convívio só nos fez engrandecer.

Agradeço a todos que fizeram parte desse ciclo de aprendizagem e conhecimento.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

Miranda TB, 2017. RESPOSTA DA TERAPIA PERIODONTAL *ONE-STAGE FULL-MOUTH DISINFECTION* EM INDIVÍDUOS OBESOS: ensaio clínico paralelo

RESUMO

Hipótese do estudo: A terapia periodontal *one-stage full-mouth disinfection* (OSFMD) é eficaz em indivíduos obesos. **Objetivos:** O objetivo deste estudo clínico paralelo foi avaliar, através de parâmetros clínicos periodontais e microbianos, a eficácia da terapia periodontal OSFMD em indivíduos obesos. **Método:** Foram incluídos no estudo 82 indivíduos de ambos os sexos com pelo menos 14 dentes, índice de massa corporal superior a 18,5 kg/m², sem uso de antibióticos ou antiinflamatórios três meses antes do início do estudo. Foram alocados em quatro grupos diferentes: peso normal (n = 18); sobrepeso (n = 21); obesidade I (n = 22) e obesidade II (n = 21). Indivíduos com histórico de tratamento periodontal seis meses antes do início do estudo também foram excluídos. Os exames clínicos e microbianos foram realizados por um único examinador no início do estudo, três e seis meses. Os seguintes parâmetros clínicos foram monitorados: índice de placa (IP), índice gengival (IG), profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínica (NIC). A carga bacteriana total e os níveis de *Treponema denticola* (Td), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) foram determinados em amostras subgengival por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR). Os dados foram analisados através da análise de variância (ANOVA), Kruskal-Wallis e Friedman. **Resultados:** Os dados clínicos, incluindo IP, PS e NIC, reduziram-se aos três meses e mantiveram-se inalterados até seis meses, enquanto o IG só reduziu no grupo de obesidade I aos seis meses. Dados microbianos mostraram que a carga bacteriana total, espécies bacterianas Td e Tf tendem a reduzir ao longo do tempo nos quatro grupos e em todos os tempos de avaliação. Os níveis de Pg reduziram, mostrando uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos três meses após a terapia OSFMD. Aa reduziu desde os três meses em todos os grupos. **Conclusão:** O protocolo terapêutico OSFMD foi eficaz no tratamento da doença periodontal crônica em todos os grupos, sendo assim, a obesidade não influenciou negativamente na resposta à terapia periodontal.

Palavras-chave: Periodontite; Bactérias; Obesidade; Terapia; Reação em cadeia da polimerase.

Miranda TB, 2017. RESPONSE OF THE PERIODONTAL THERAPY ONE-STAGE FULL-MOUTH DISINFECTION IN OBESE INDIVIDUALS: parallel clinical trial

ABSTRACT

Hypothesis of the study: The periodontal therapy designed one-stage full-mouth disinfection (OSFMD) is efficacy to treat obese individuals. **Objectives:** The aim of this parallel clinical study was to the evaluate, through periodontal and microbial clinical parameters, the efficacy of OSFMD periodontal therapy in obese weight. **Methods:** Eighty-two individuals of both genders with at least fourteen teeth, body mass index more than 18.5 kg/m², with no use of antibiotics or anti inflammatory three months before the beginning of the study have been included in the present study. They were allocated in four different groups: normal weight (n=18); overweight (n=21); obesity I (n=22) and obesity II (n=21). Individuals with history of periodontal treatment six months before the beginning of the study were also excluded. Clinical and microbial exams were performed by a single examiner at baseline, three and six months. The following clinical parameters were monitored: plaque index (IP), gingival index (IG), probing depth (PS) and clinical attachment level (NIC). Total bacterial load and levels of *Treponema denticola* (Td), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf) and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) were determined in subgingival samples by real-time polymerase chain reaction (qPCR). Data was analyzed by using analysis of Variance (ANOVA), Kruskal-Wallis and Friedman. **Results:** Clinical data including IP, PD and and CAL reduced at three months and kept unchanged up to six months while GI only reduced in the obesity I group at six months. Microbial data showed that total bacterial load, Td and Tf bacterial species tended to reduce overtime in four groups and in all evaluation times. *P. gingivalis* levels reduced showing a statistically significant difference among groups at three months after OSFMD therapy. Aa reduced since three months in all groups. **Conclusion:** The OSFMD therapy was effective in obesese individuals diagnosed with chronic periodontal disease and no negative impact was observed in quality of responde treatment in the allocated population.

Keywords: Periodontitis; bacteria; Obesity; Therapy; Polymerase chain reaction.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos <i>primers</i> que foram utilizados no estudo	36
Tabela 2 – Características gerais dos participantes	38
Tabela 3 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos no grupo peso normal	48
Tabela 4 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos grupo sobrepeso	49
Tabela 5 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos no grupo obesidade I	50
Tabela 6 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos no grupo obesidade II	51

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Delineamento do estudo 27
- Figura 2** – Avaliação dos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG entre os grupos no *baseline* – Análise de Variância e *kruskal-Wallis* 39
- Figura 3** – Avaliação dos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG entre os grupos aos três meses após a terapia periodontal OSFMD – Análise de Variância e teste *kruskal-Wallis* 40
- Figura 4** – Avaliação dos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG entre os grupos aos seis meses após a terapia periodontal OSFMD – Análise de Variância e teste *kruskal-Wallis* 40
- Figura 5** – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo peso normal
* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman* 41
- Figura 6** – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo sobrepeso
* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman* 41
- Figura 7** – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo obesidade I
* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman* 42
- Figura 8** – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo obesidade II
* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman* 42
- Figura 9** – Análise da Carga total bacteriana e das bactérias *T. denticola* (Td), *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythia* (Tf) e *A. actinomycetemcomitans* (Aa) no *baseline*
*, #, & = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – teste de *Kruskal-Wallis* 43
- Figura 10** – Análise da Carga total bacteriana e das bactérias *T. denticola* (Td), *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythia* (Tf) e *A. actinomycetemcomitans* (Aa) aos três meses após a terapia periodontal OSFMD – teste de *Kruskal-Wallis* 43
- Figura 11** – Análise da Carga total bacteriana e das bactérias *T. denticola* (Td), *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythia* (Tf) e *A. actinomycetemcomitans* (Aa) aos seis meses após a terapia periodontal OSFMD – teste de *Kruskal-Wallis* 44
- Figura 12** – Quantificação de Carga total bacteriana nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo – teste de *Friedman* 45

Figura 13 – Quantificação de *T. denticola* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo – teste de *Friedman* 45

Figura 14 – Quantificação de *T. forsythia* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo – teste de *Friedman* 46

Figura 15 – Quantificação de *P. gingivalis* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – teste de *Friedman* 46

Figura 16 – Quantificação de *A. actinomycetemcomitans* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – teste de *Friedman* 47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1. Resposta à terapia periodontal em indivíduos obesos	15
2.2. Relação entre obesidade e doença periodontal	19
3. PROPOSIÇÃO	25
4. MÉTODO	26
4.1. Considerações éticas	26
4.2. Desenho do estudo	26
4.3. Cálculo amostral	27
4.4. Critérios de inclusão	28
4.5. Critérios de exclusão	28
4.6. Determinação do índice de massa corpórea	29
4.7. Exames clínicos periodontais e radiográficos	30
4.8. Grupos experimentais	31
4.9. Protocolo de tratamento <i>one-stage full-mouth disinfection</i>	32
4.10. Obtenção das amostras intra-sulculares para análise microbiana	33
4.11. Extração do DNA	33
4.12. Análise microbiológica pela reação em cadeia da polimerase em tempo real	35
4.13. Análise estatística	37
5. RESULTADOS	38
6. DISCUSSÃO	52
7. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica considerada um problema de saúde pública pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2013). Quarenta e dois milhões de crianças no mundo abaixo dos cinco anos de idade estão com sobrepeso ou são obesas (WHO, 2013). No Brasil, em 2014, 55,2% dos adultos com 18 anos ou mais foram considerados acima do peso ($IMC \geq 25\text{kg/m}^2$) (WHO, 2016) e a prevalência da obesidade ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$) em adultos com 18 anos ou mais correspondia a 17,1% em 2014 (WHO, 2016), aumentando 1,1% desde 2009 (WHO, 2013).

A obesidade influencia negativamente a saúde geral do indivíduo, desencadeando ou agravando inúmeras patologias. Em adição, a obesidade tem sido associada a eventos adversos pós-operatórios como infecções e retardo no processo cicatricial (Doyle et al., 2010).

O sobrepeso e a obesidade têm sido associadas à doença periodontal, pois indivíduos nessas condições estão sistemicamente comprometidos pela presença de mediadores inflamatórios, o que pode favorecer a progressão principalmente das periodontites (Genco et al., 2005).

Atualmente são reconhecidos como fatores de risco à doença periodontal o tabagismo e bactérias específicas chamadas periodontopatogênicas. Devido à ausência de maiores evidências científicas, outros fatores são apontados como prováveis fatores de risco: obesidade, nível sócio-econômico-cultural, cálculo dental, estresse e depressão, consumo de álcool, idade e gênero (Souza et al., 2010).

A doença periodontal representa uma das patologias bucais mais frequentes em toda a população. A prevalência da doença é alta globalmente atingindo aproximadamente 47% da população adulta americana (Eke et al., 2012). No Brasil dados do Ministério da Saúde (SB Brasil, 2010) mostram que aproximadamente 20% da população entre 35 e 44 anos de idade apresentam bolsas periodontais ≥ 4 mm.

Pode-se caracterizar a doença periodontal como destrutiva, resultante de um processo inflamatório nos tecidos periodontais de proteção e suporte desencadeado por agentes patogênicos presentes no biofilme dental (Maciel et al., 2016). Destaca-se a participação de bactérias do complexo vermelho (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*) descrito por Socransky (1998), frequentemente associado a bolsas periodontais profundas em indivíduos com periodontite crônica e o patógeno *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, que está associado à periodontite agressiva e à maior severidade da doença periodontal, porém costuma ser encontrado também em casos de periodontite crônica (Souza et al., 2008).

Sabe-se que *P. gingivalis* influencia no desenvolvimento da doença por apresentar longas fímbrias que colaboram no processo de iniciação e progressão da periodontite (Kuboniwa et al., 2010). *T. forsythia* é um indicador de lesão ativa e de um aumento no risco de perda de inserção clínica, sendo um microrganismo presente em casos de recolonização pós-tratamento periodontal (Ready et al., 2008). Já *T. denticola* tem sido considerado um importante patógeno periodontal; esta espécie é um espirilo anaeróbio estrito dotado de mobilidade, podendo-se aderir a fibroblastos, células epiteliais, eritrócitos e fibronectina, além disso, tem sido demonstrado que *T. denticola* pode invadir células e tecidos e induzir a degranulação de leucócitos polimorfonucleares; também apresenta atividade hemolítica, imunossupressora e

algumas cepas expressam em sua superfície proteínas com atividade citotóxica e de adesão (Roças et al., 2000). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* é uma bactéria Gram-negativa anaeróbia facultativa que está associada à periodontite em diferentes graus (Yang et al., 2005). Tem sido frequentemente detectada em indivíduos sem evidência de doença periodontal, o que sugere que todos os sujeitos são igualmente suscetíveis ou que existem variações na virulência e no potencial patogênico do microrganismo (Mínguez et al., 2014). Este patógeno pode expressar máxima ou mínima leucotoxicidade, fator que irá determinar maior ou menor capacidade de destruição tecidual (Cortelli et al., 2003). Tal característica está ligada à produção de uma leucotoxina, derivada de uma proteína, que auxilia a bactéria a escapar da resposta imune do hospedeiro durante a infecção. Essa toxina atua na membrana celular que visa especificamente às células brancas do sangue (glóbulos brancos) (Kachlany, 2010).

A terapia periodontal tem como princípio básico controlar e, quando possível, eliminar fatores causais responsáveis pela doença. Inicialmente os métodos de higiene bucal praticados pelo paciente devem ser considerados e, frequentemente, reeducados principalmente quando estes são negligenciados. Além disso, a intervenção profissional no sentido de eliminar biofilme e cálculo também é primordial. Logo, o sucesso terapêutico está no restabelecimento da saúde periodontal e na prevenção de uma futura progressão da doença (Kinane et al., 2008).

Procedimentos mecânicos profissionais visando a modificação do biofilme dental e a eliminação de irritantes locais são procedimentos básicos na terapia periodontal inicial e tem sido executados em uma sistemática de sessões semanais (raspagem por quadrante) ou em duas sessões em 24 horas (*one-stage full-mouth disinfection* – OSFMD).

A periodontite e a obesidade são desordens crônicas que tem em comum afetarem um grande número de pessoas em todo o mundo. Apesar de estudos associarem obesidade com doença periodontal (Chaffee & Weston, 2010; Zuza et al., 2011; Al-Zahrani et al.; 2012; Altay et al.; 2013, Moura-Grec et al., 2014; Keller, 2015) ainda são escassas as evidências fundamentadas em estudos prospectivos. Algumas revisões sistemáticas estão baseadas em estudos clínicos transversais e poucas em estudos longitudinais ou ensaios clínicos. Observa-se ainda a ausência de estudos avaliando o perfil microbiano de indivíduos obesos. Logo, a hipótese deste estudo é a de que a terapia de curto prazo OSFMD acarretará melhoras clínicas e microbianas em indivíduos obesos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Resposta à terapia periodontal em indivíduos obesos

A doença periodontal é desencadeada por bactérias presentes no biofilme dental, que invadem os tecidos de sustentação dos dentes provocando uma inflamação crônica. Seu tratamento consiste em procedimentos de raspagem e alisamento radicular juntamente com instruções de higiene oral e tem como objetivo restabelecer a compatibilidade biológica entre as superfícies radiculares e os tecidos moles, restaurando a saúde periodontal do indivíduo.

No estudo de Zuza et al. (2011), 27 indivíduos obesos e 25 pacientes de peso normal foram avaliados e diagnosticados com doença periodontal crônica. Os parâmetros clínicos periodontais índice de placa (IP), índice gengival (IG), sangramento a sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção (NCI) foram avaliados no início do estudo e três meses após terapia periodontal não cirúrgica. Os indivíduos foram também submetidos aos exames bioquímicos: glicemia em jejum, hemoglobina glicada, interleucina (IL)-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interferon- γ (I- γ). Os autores observaram redução significativa no índice de placa, índice gengival, sangramento a sondagem, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção em ambos os grupos. Houve redução significativa nas citocinas em obesos e indivíduos de peso normal após terapia periodontal, contudo, os níveis de IL-6 e TNF- α permaneceram elevados três

meses após a terapia periodontal. Os autores concluíram que a obesidade não parece desempenhar papel negativo na melhora clínica e na diminuição dos níveis de citocinas pró-inflamatórias após tratamento periodontal.

Em um ensaio clínico controlado, braço-paralelo, duplo-cego e randomizado com duração de um ano, López et al. (2012) avaliaram se a terapia periodontal poderia reduzir a inflamação sistêmica e o risco cardiovascular em indivíduos com síndrome metabólica. Os participantes foram divididos em dois grupos: experimental de tratamento (n=82), neste foi realizado controle de placa e alisamento radicular e administração de amoxicilina e metronidazol; e tratamento controle (n=83), em que receberam instruções de controle de placa, raspagem supragengival e dois comprimidos placebo (idênticos em aparência à amoxicilina e ao metronidazol). Foram registrados fatores de risco para doença cardiovascular e medidos índice de massa corpórea (IMC) e níveis de lipoproteína sérica colesterol, glicose, proteína C-reativa e fibrinogênio, em seguida foi realizado o exame clínico periodontal. Essas medidas foram obtidas no início do estudo e de três em três meses até completar 12 meses após a terapia periodontal. Os resultados mostraram que, no início do estudo, os dois grupos apresentavam características semelhantes e, no decorrer do mesmo, não ocorreram alterações significativas no estilo de vida, na frequência de hipertensão arterial, IMC, colesterol de lipoproteína no soro e glicose. Em relação aos parâmetros clínicos periodontais, houve melhora significativa nos dois grupos após três meses e essa melhora se manteve até o 12º mês. Houve melhora das condições periodontais no grupo experimental e concomitante diminuição nos níveis de fibrinogênio no 6º e 12º mês. Foi demonstrado que os níveis de proteína C-reativa diminuíram e que esta redução foi significativa no 9º e 12º meses em ambos os grupos. Os resultados indicaram também que houve redução da inflamação periodontal e nos níveis de

proteína C-reativa após o 9º mês em pacientes com síndrome metabólica tanto no grupo experimental como no grupo controle.

Quarenta mulheres (20 de peso normal e 20 obesas) participaram do estudo de Al-Zahrani et al. (2012), em que foi avaliado o efeito da terapia periodontal de raspagem e alisamento radicular sobre os níveis de proteína C-reativa. Avaliaram-se as medidas de PS, NCI, SS, IP e retração gengival (RG). Em adição, coleta sanguínea para análise de proteína C-reativa foi realizada. A mensuração dos parâmetros clínicos e nova coleta sanguínea foram novamente realizadas aos dois meses após a terapia. Foi identificada redução nos níveis de proteína C-reativa e melhora nos parâmetros clínicos periodontais em ambos os grupos. Concluiu-se que houve redução da inflamação sistêmica após a terapia periodontal e que a obesidade não influenciou de modo negativo a resposta à terapia.

Com o objetivo de avaliar o efeito da terapia periodontal de raspagem e alisamento radicular em uma única sessão sobre os níveis de TNF- α , IL-6, proteína C-reativa, perfil lipídico e glicose em indivíduos obesos e de peso normal com periodontite crônica, Altay et al. (2013) mensuraram os parâmetros clínicos periodontais IP, IG, PS, SS, RG e NCI no início do estudo e três meses após a terapia. Para análise de citocinas, foram coletadas amostras sanguíneas no início e final do estudo. Verificou-se que no grupo de obesos houve maior redução de citocinas TNF- α , IL-6 e na resistência à insulina. Já para os indivíduos de peso normal houve redução apenas de IL-6. Os autores concluíram que os dois grupos responderam satisfatoriamente à terapia periodontal e que esta foi eficaz na diminuição da inflamação e nos níveis de citocinas inflamatórias na circulação, podendo estar associada com a redução na resistência à insulina em indivíduos obesos.

Suvan et al. (2014) investigaram a resposta clínica da terapia não cirúrgica periodontal em indivíduos com sobrepeso/obesos diagnosticados com doença periodontal avançada. A obesidade esteve associada com as piores médias de PS e com bolsas > 4mm de profundidade dois meses após a terapia. Os autores indicaram ainda que a magnitude dessa associação foi semelhante àquela observada ao tabagismo.

Em 2015, Papageorgiou et al. fizeram uma revisão sistemática afim de avaliar se os efeitos da terapia periodontal diferiam entre indivíduos com diferentes IMCs. Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 15 estudos (randomizados e não randomizados) foram incluídos. Considerando parâmetros clínicos, metabólicos e antropométricos, os resultados mostraram que não houve diferença na resposta à terapia periodontal entre os indivíduos de peso normal, com sobrepeso ou obesos. O estudo mostrou que em indivíduos com sobrepeso ou obesos portadores de diabetes houve um aumento nos níveis de adiponectina e redução nos níveis de leptina. Já indivíduos saudáveis com sobrepeso ou obesos, observou-se redução nos níveis de TNF- α e hemoglobina glicada comparados a indivíduos de peso normal. Pode-se concluir que não houve evidência da associação entre o peso do indivíduo e a diabetes com a resposta à terapia periodontal.

Ongoz et al. (2016) investigaram os efeitos da terapia periodontal em relação aos níveis de glutathiona reduzida e oxidada no fluido gengival, plasma e saliva de indivíduos obesos. Dois grupos foram avaliados: teste (obesos e não obesos com periodontite – n=30) e controle (obesos e não obesos sem periodontite – n=30). Foi realizada avaliação clínica periodontal e coleta de fluido gengival, plasma e saliva no início do estudo e três meses após a terapia periodontal. Por espectrofotometria, os níveis de glutathiona reduzida e oxidada foram analisados. Os níveis de glutathiona

reduzida e oxidada no plasma e fluido gengival em indivíduos obesos com periodontite crônica foram mais baixos do que em indivíduos de peso normal. Porém os níveis de glutathione reduzida no plasma, fluido gengival e saliva aumentaram no grupo teste após a terapia periodontal. Os autores puderam concluir que a obesidade em indivíduos com periodontite crônica esteve associada à diminuição dos níveis de glutathione reduzida e oxidada e que a terapia periodontal melhorou os níveis de glutathione em indivíduos obesos e de peso normal.

2.2. Relação entre obesidade e doença periodontal

A doença periodontal consiste em um estado inflamatório crônico envolvendo a participação de bactérias periodontopatogênicas e secreção de citocinas pró-inflamatórias. O tecido adiposo é um dos principais focos das pesquisas em obesidade, que é caracterizada por uma inflamação crônica, pois secreta diversas adipocinas pró-inflamatórias. Essas adipocinas tem sua secreção influenciada pela quantidade de gordura corpórea total. Com isso, podemos entender como a obesidade pode influenciar a resposta imunológica contra antígenos bacterianos.

O IMC é uma medida utilizada para calcular a adiposidade total de um indivíduo. Esta medida de referência internacional é reconhecida pela OMS e tem como vantagem a facilidade de sua aplicação. Como o IMC não contempla a massa magra, massa gorda e a estrutura óssea, os valores de referência da circunferência da cintura também são utilizados (> 102cm para homens e > 88cm para mulheres) (WHO/IASO, 2000).

Em uma revisão sistemática incluindo meta-análise publicada por Suvan et al. (2011), foi demonstrado que indivíduos obesos apresentavam 2,3 vezes maior risco de desenvolver doença periodontal independentemente dos fatores de risco tradicionais para a doença periodontal do que indivíduos controles com peso normal.

Avaliação clínica periodontal em 300 indivíduos com periodontite generalizada foi realizada no estudo de Mathur et al. (2011). Os autores avaliaram o IMC e a medida da circunferência da cintura em relação a medidas periodontais. Os resultados mostraram que a prevalência da doença periodontal foi maior em obesos (88%) em relação a indivíduos de peso normal ou com sobrepeso (74,4%). A prevalência de doença periodontal em indivíduos com medidas da circunferência da cintura menor que o padrão foi de 69,7% e em indivíduos com circunferência da cintura acima do padrão, 95,8%. Os autores concluíram que a prevalência da doença periodontal em indivíduos obesos é maior e que a obesidade é fator de risco potencial para a doença periodontal.

Em 2012, Pradeep et al. fizeram um estudo clínico afim de avaliar, em indivíduos obesos, a concentração aminoácido progranulina e da proteína C-reativa no soro e no fluido gengival crevicular. O IMC dos indivíduos foi determinado e as medidas de circunferência da cintura obtidas; os parâmetros clínicos periodontais PS, NCI e IG foram medidos. Os participantes foram alocados em quatro grupos (n=10): grupo I (periodontalmente saudáveis e não obesos); grupo II (periodontalmente saudáveis e obesos); grupo III (não obesos com periodontite crônica) e grupo IV (obesos com periodontite crônica). A concentração do aminoácido progranulina e de proteína C-reativa foi maior nos grupos IV, III, II e I, respectivamente. Com isso, os autores concluíram que o aminoácido progranulina e a proteína C-reativa podem ser

biomarcadores para a periodontite crônica e para o processo inflamatório associado à obesidade.

Para avaliar a associação entre o IMC e a condição periodontal de mulheres brasileiras, Pataro et al. (2012) incluíram 594 participantes em seu estudo, que foram alocadas em cinco grupos: peso normal (n=352); sobrepeso (n=54); obesidade I (n=48); obesidade II (n=58); obesidade III (n=74). Análise de fatores de risco e parâmetros clínicos PS, SS e NCI foram correlacionados. Os parâmetros clínicos avaliados foram estatisticamente diferentes em mulheres obesas e com sobrepeso comparados a mulheres de peso normal. Os fatores de risco, como tabagismo, diabetes e hipertensão foram associados com a presença de doença periodontal. De acordo com os resultados apresentados, os autores concluíram que a doença periodontal esteve relacionada com a obesidade e que mulheres obesas deveriam participar de algum programa preventivo de saúde bucal.

Em um estudo transversal, Prpic et al. (2013) estudaram as associações entre a obesidade e a periodontite, com higiene bucal e perda dos dentes em adultos croatas não fumantes. Foram incluídos 292 indivíduos e cada participante preencheu um questionário com perguntas sobre higiene bucal, educação, altura e peso. Foi realizada análise de regressão múltipla, sendo que a periodontite foi utilizada como variável primária, e IMC, higiene bucal, perda de dentes e nível de escolaridade foram utilizados como variáveis dependentes. Observou-se que mulheres obesas, com nível de escolaridade baixo, idade entre 35 e 55 anos tiveram de cinco a seis vezes mais chances de desenvolver periodontite avançada, e o uso de escovas interdentais, fio dental e número de dentes se relacionou com os indivíduos de IMC normal. Concluiu-se que a obesidade se associou à perda dentária, higiene bucal e nível de

escolaridade. Já o IMC não pode ser relacionado com a severidade da periodontite, exceto para as mulheres com nível de escolaridade baixo entre 35 a 55 anos.

Para avaliar a associação entre a obesidade e a doença periodontal, Moura-Grec et al. (2014) fizeram uma revisão sistemática com meta-análise, em que incluíram 31 estudos. Desses 31, 17 mostraram que a obesidade foi um provável fator de risco para a doença periodontal. Em oito estudos foram demonstrados uma tendência à associação entre a obesidade e a doença periodontal e seis não mostraram haver tal associação. Já os resultados de meta-análise identificaram associação positiva entre o IMC e a doença periodontal.

Em um estudo transversal, Khan et al. (2015) determinaram a prevalência da periodontite crônica em indivíduos obesos. Participaram do estudo 165 indivíduos. Todos foram submetidos a avaliação física (medidas biométricas) e avaliação clínica periodontal (PS, IP, índice de sangramento gengival – ISG e perda de inserção clínica – PIC). Houve maior prevalência de periodontite crônica em indivíduos obesos (73,9%) sendo que, 55% desses indivíduos apresentavam doença periodontal avançada. Aproximadamente 83% dos indivíduos apresentaram $ISG \geq 30$. Sítios com $PIC \geq 4\text{mm}$ foram observados em 64% dos indivíduos, enquanto que 92% dos indivíduos apresentaram sítios com $IP \geq 20\%$. Os autores concluíram que o ISG e o IP foram potenciais preditores de periodontite crônica e que a prevalência de periodontite crônica entre os obesos foi elevada.

Em 2016, Nakata et al. avaliaram a relação entre os níveis de 11β hidroxisteróide desidrogenase tipo 1 (11β - HSD1) e tipo 2 (11β - HSD2), periodontite crônica e IMC. Os indivíduos foram divididos em dois grupos com relação ao tipo de amostra, em que foram biópsias foram feitas de: tecidos periodontais de dentes

extraídos de indivíduos portadores de periodontite crônica (n=38); e dentes extraídos de indivíduos saudáveis por motivos ortodônticos (n=11). Essas amostras foram analisadas por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR). Foi observada maior expressão de 11 β - HSD1 e menor expressão de 11 β - HSD2 em indivíduos com periodontite crônica em comparação com indivíduos saudáveis. Não houve correlação entre o IMC e os níveis de 11 β - HSD1. Em conclusão, o aumento na proporção de 11 β - HSD1 contra 11 β - HSD2 esteve relacionado com a doença periodontal, independentemente da obesidade.

No estudo de Maciel et al. (2016), foram selecionados 166 indivíduos obesos e de peso normal, com e sem periodontite crônica afim de avaliar a composição microbiana subgingival. Esses indivíduos foram divididos em quatro grupos: peso normal com saúde periodontal (n=44); peso normal com periodontite crônica (n=40); obesos com saúde periodontal (n=40); obesos com periodontite crônica (n=42). Todos receberam avaliação clínica periodontal, microbiológica, determinação do IMC e medida da circunferência da cintura, em seguida receberam tratamento periodontal ou profilaxia. Observou-se que todos os parâmetros clínicos periodontais foram maiores nos grupos de peso normal e obesos com periodontite crônica. Indivíduos obesos com periodontite apresentaram maiores níveis de bactérias do que indivíduos de peso normal com periodontite e obesos sem periodontite apresentaram maiores níveis bacterianos do que indivíduos de peso normal sem periodontite. Os resultados desse estudo sugerem que a obesidade está relacionada ao aumento dos níveis e proporções de patógenos periodontais, principalmente em indivíduos com periodontite crônica.

Em um estudo transversal, Pataro et al. (2016) compararam a frequência de periodontopatógenos orais e *Helicobacter pylori* em indivíduos obesos com e sem

periodontite submetidos à cirurgia bariátrica. Foram distribuídos em dois grupos testes (submetidos à cirurgia bariátrica com periodontite – n=40; submetidos à cirurgia bariátrica sem periodontite – n=39) e dois grupos controles (obesos com periodontite – n=35; obesos sem periodontite – n=40). Os periodontopatógenos e *H. pylori* foram detectados a partir da reação em cadeia da polimerase em amostras de saliva, língua e estômago. Foi demonstrada alta frequência de periodontopatógenos na boca, sendo que o grupo teste com periodontite teve maior frequência de *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia*, enquanto *Campilobacter rectus* foi encontrado em indivíduos sem periodontite. Nas amostras de biópsia do estômago, *H. pylori* e periodontopatógenos apareceram em menor frequência nos grupos testes. Pode-se concluir que indivíduos obesos apresentaram altas frequências de periodontopatógenos e *H. pylori* em suas bocas e estômagos.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo clínico paralelo foi avaliar, através de parâmetros clínicos periodontais e microbianos, a eficácia da terapia periodontal OSFMD em indivíduos obesos.

4. MÉTODO

4.1. Considerações éticas

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté sob número CAAE 36828114.4.0000.5501.

4.2. Desenho do estudo

O presente estudo tem características de um ensaio clínico paralelo. Possui quatro grupos que foram classificados de acordo com os valores de IMC e circunferência da cintura dos indivíduos e todos são portadores de periodontite crônica de moderada a avançada, sendo eles: grupo peso normal; grupo sobrepeso; grupo obesidade grau I; e grupo obesidade grau II. Avaliações clínicas e microbianas foram realizadas no tempo 0 (*baseline*) e em três e seis meses após a terapia OSFMD. Todos os indivíduos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para permitir o desenvolvimento das atividades.

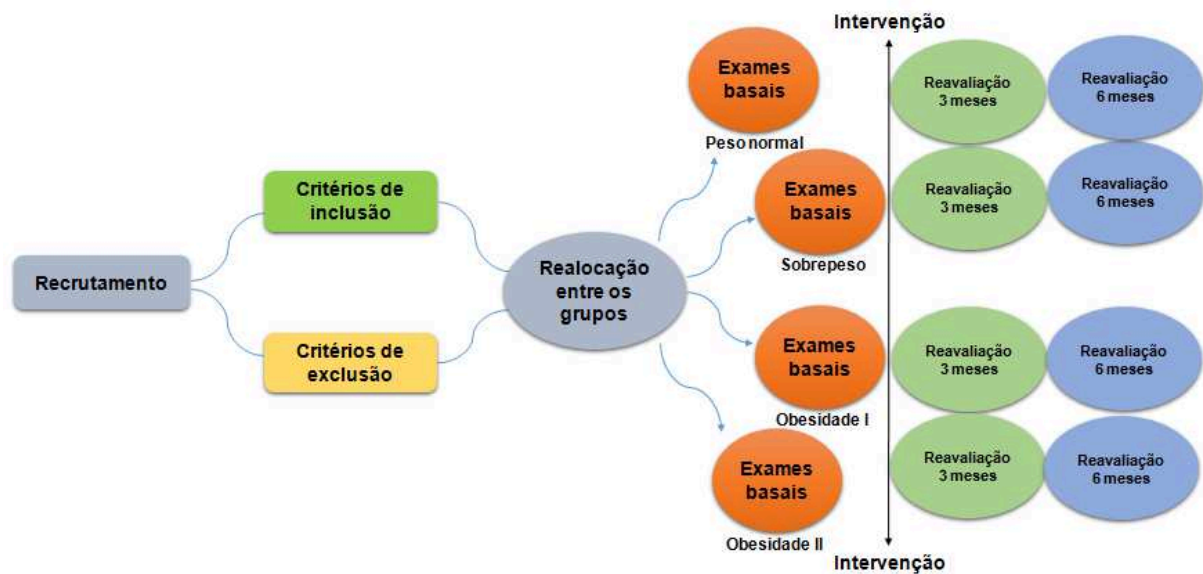


Figura 1 – Delineamento do estudo

4.3. Cálculo amostral

Para o estabelecimento do número de participantes foi realizado um cálculo amostral. Dados da literatura com parâmetros clínicos e microbiológicos similares ao presente estudo foram analisados e a seguinte fórmula foi aplicada:

$$DMS = t5\% \sqrt{\frac{2 * DMe}{N}}$$

Em que, DMS é a diferença mínima significativa que se deseja observar (selecionou-se 7% de diferença), t (5%), um valor de 2 e DMe - a medida de dispersão observada, sendo o desvio padrão selecionado. Após a aplicação da fórmula para os

patógenos e para as variáveis clínicas, adotando uma margem de segurança de 20%, verificou-se a necessidade de inclusão de 18 indivíduos por grupo amostral.

4.4. Critérios de inclusão

Indivíduos do gênero masculino e feminino que receberam diagnóstico de periodontite crônica generalizada de moderada a avançada de acordo com os critérios de Armitage (1999); ou seja, apresentar mais que 30% dos sítios periodontais afetados pela doença, valores médios de perda de inserção clínica superiores a 3mm, presença de fatores locais como biofilme e cálculo dentário associados a inflamação dos tecidos periodontais. Ter no mínimo 18 anos de idade; IMC acima de 18,5kg/m²; no mínimo 14 dentes naturais; não ter feito uso de antibióticos ou anti-inflamatórios não esteroidais três meses antes do início do estudo; concordar em participar do estudo atendendo as consultas agendadas (iniciais, três e seis meses) e assinar o TCLE.

4.5. Critérios de exclusão

Foram excluídos indivíduos participantes de programas de perda de peso corporal; aqueles com história de tratamento periodontal realizado seis meses antecedentes ao início do estudo e mulheres gestantes e lactantes. Foram excluídos ainda indivíduos diagnosticados com periodontite agressiva, periodontite ulcerativa necrosante ou doenças gengivais, bem como aqueles com necessidade de profilaxia

antibiótica. Aparelhos ortodônticos fixos, próteses removíveis ou fixas extensas também foram considerados critérios de exclusão. Indivíduos usaram algum dos medicamentos citados a seguir, ciclosporina, nifedipina, fenitoína e antibióticos nos três meses antecedentes ao estudo.

4.6. Determinação do índice de massa corpórea

O peso (quilogramas) e a altura (metros) dos indivíduos foram obtidos inicialmente e aos seis meses para verificar qualquer mudança de categoria no que se refere ao peso. A balança foi aferida utilizando-se peso padrão INMETRO. Os indivíduos foram instruídos a irem na primeira consulta usando roupas leves, e os sapatos foram removidos antes das tomadas das medidas por auxiliar ambulatorial. O IMC foi calculado como um indicador de adiposidade total com relação à obesidade, dividindo-se o peso pelo quadrado da altura, ou seja, $IMC = \text{kg}/\text{m}^2$. Os indivíduos foram categorizados pela classificação e definição de sobrepeso e obesidade baseada no *Expert Panel* (1998). Sendo assim, indivíduos de peso normal = IMC de 18,5-24,9 kg/m^2 ; sobrepeso = IMC de 25-29,9 kg/m^2 ; obesidade grau I = IMC de 30-34,9 kg/m^2 e obesidade grau II = IMC de 35-39,9 kg/m^2 . Além do $IMC \geq 30$, foi necessário apresentar valores de circunferência da cintura $> 102\text{cm}$ em homens e $> 88\text{cm}$ em mulheres (WHO/IASO, 2000).

4.7. Exames clínicos periodontais e radiográficos

Todos os indivíduos incluídos receberam exame clínico periodontal completo no início do estudo para estabelecimento do diagnóstico (*baseline*), em três e em seis meses após a intervenção periodontal para avaliar a resposta clínica ao tratamento. Somente quando da realização do exame periodontal inicial, exame radiográfico do tipo periapical foi realizado de acordo com o protocolo da Academia Americana de Periodontia (1999) afim de determinar a altura da crista óssea alveolar e confirmar o diagnóstico periodontal.

As mensurações em milímetros de PS e do NCI foram obtidas em quatro pontos por dente (mesio-vestibular; medio-vestibular; disto-vestibular; medio-palatina/lingual), em todos os dentes presentes excetuando-se os terceiros molares, com sonda periodontal manual (PCPUNC 15 Hu-friedy Mfg Co Inc. Chigago IL). Adicionalmente, foram avaliados IP (Silness & Løe, 1964) e IG (Løe & Silness, 1963), como descritos abaixo:

Índice de placa

0 = ausência de placa na área gengival.

1 = presença de uma fina camada de placa da margem gengival.

2 = moderado acúmulo de depósitos moles na margem/sulco gengival.

3 = abundante acúmulo de depósitos moles na margem/sulco gengival.

Índice gengival

0 = gengiva normal.

1 = inflamação branda – sem sangramento à sondagem.

2 = inflamação moderada – com sangramento à sondagem.

3 = inflamação avançada – tendência ao sangramento espontâneo.

Para calibração intra-examinador (discente do programa de Doutorado), foi aplicado o método Erro Padrão da Medida (EPM) para as variáveis contínuas, PS e NCI (Araujo et al., 2003). O examinador foi considerado calibrado quando apresentou resultados de EPM $< 0,15$ e reprodutibilidade $> 85\%$. Os indivíduos utilizados para os exercícios de treinamento e para calibração não fizeram parte da amostra do estudo. Os procedimentos de treinamento e calibração foram efetuados antes dos exames basais e nas duas semanas que antecedem os exames de seis meses.

4.8. Grupos experimentais

Após serem respeitados os critérios de inclusão e exclusão, os indivíduos foram distribuídos em quatro grupos de acordo com o seu IMC e valores de circunferência da cintura e submetidos ao protocolo terapêutico OSFMD preconizado por Quiryren et al. (1995).

Grupo peso normal: constituído por 18 indivíduos de peso normal (IMC=18,5-24,9kg/m²).

Grupo sobrepeso: constituído por 21 indivíduos com sobrepeso (IMC=25,0-29,9kg/m²).

Grupo obesidade I: constituído por 22 indivíduos com obesidade grau I (IMC=30,0-34,9kg/m²).

Grupo obesidade II: constituído por 21 indivíduos com obesidade grau II (IMC=35,0-39,9kg/m²).

Perfazendo um total de 82 indivíduos.

4.9. Protocolo de tratamento *one-stage full-mouth disinfection*

O protocolo terapêutico utilizado foi OSFMD preconizado por Quirynen et al. (1995). Os indivíduos receberam raspagem e alisamento radicular com instrumentos manuais (curetas Gracey, MacCall e limas Hirschfield) em estágio único (24 horas) divididos em duas sessões (dois dias consecutivos), sob anestesia local com cloridrato de articaína a 4% com adrenalina 1:100.000 (Articaíne®, DFL-Brasil) com a inclusão da aplicação de gel de clorexidina (CHX) (1%) nas bolsas periodontais após a raspagem. Escovação lingual por um minuto com gel de CHX (1%), e bochecho no início e final de cada sessão com CHX 0,2% por 30 segundos (sendo a forma de gargarejo nos últimos 10 segundos) e, uso caseiro de CHX 0,2% por 15 dias após o término da raspagem em estágio único. Em adição foi realizada orientação de higiene bucal, profilaxia com taça de borracha e pasta profilática para remoção de biofilme, cálculo e manchas dentárias extrínsecas. Especificamente, os indivíduos receberam instruções sobre a técnica de escovação e limpeza interdental com fio dental e/ou outros dispositivos conforme necessidades individuais. Adicionalmente foram

instruídos quanto a limpeza da língua e realização dos bochechos caseiros, com uso de copo dosador e cronômetro.

4.10. Obtenção das amostras intra-sulculares para análise microbiana

As amostras intra-sulculares foram coletadas baseadas na metodologia já utilizada pelo nosso grupo (Cortelli et al., 2005). Mais especificamente, foram coletadas amostras das faces méso-vestibulares dos cinco dentes com maiores valores de PS e/ou NCI e, quando possível, contemplando a amostragem dos quatro quadrantes. Quando da coleta intra-sulcular, cada dente previamente selecionado foi isolado com roletes de gaze esterilizada e o biofilme supragengival visível foi removido com algodão também esterilizado. Um cone de papel número 30 (Dentsply®) foi inserido na porção mais apical da bolsa periodontal pré-selecionada e aí mantido por 60 segundos. A partir de então, os cinco cones de papel foram colocados em um único tubo de 1,5ml vazio e mantidos durante a coleta em isopor com gelo. Ao final de cada coleta os tubos foram armazenados a -80°C até o seu processamento no Centro de Pesquisa Odontológica da UNITAU (CEPEO).

4.11. Extração do DNA

Foi utilizado o kit *PureLink™ Genomic DNA Purification Kit* (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante, para a extração do DNA genômico das amostras coletadas e de culturas puras microbiológicas de cada

bactéria analisada, afim de se obter uma curva padrão, que posteriormente foi usada na qPCR. O DNA extraído dessa cultura pura foi quantificado no *NanoDrop 2000 Spectrophotometer* da *Thermo Scientific* e, a partir dessa leitura, foi realizada uma diluição até a obtenção de uma concentração de 10^8 moléculas por 100 μ l. Segue abaixo a descrição do processo de extração.

Tanto as amostras de cultura pura microbiológica quanto os tubos de 1,5ml contendo os cones de papel foram homogeneizados em agitador mecânico por 60 segundos e 500 μ L da amostra foram centrifugados (15.000x g por três minutos). Após remoção do sobrenadante, 180 μ l de *PureLink™ Genomic Digestion Buffer* e 20 μ l de *Proteinase K* foram adicionados ao pellet formado e cada tubo foi incubado à 55°C por 90 minutos. Após estes procedimentos, 20 μ l de *RNase A* foi adicionado ao lisado, esta solução foi agitada e incubada por dois minutos à temperatura ambiente. Em seguida, 200 μ l de *PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer* e 200 μ l de etanol (99,5%) foram adicionados e o tubo agitado por cinco segundos até a formação de uma solução homogênea. Ao término deste processo, todo o lisado (aproximadamente 640 μ l) foi transferido para uma coluna (contendo membrana de sílica – *PureLink™ Spin Column*) acoplado a um tubo de coleção e este conjunto foi centrifugado à 15.000x g por um minuto. Em seguida, foram realizadas duas lavagens da membrana com 500 μ l de *Wash Buffer I* (15.000x g por um minuto) e *Wash Buffer II* (15.000x g por três minutos). Finalmente, 100 μ l de *PureLink™ Genomic Elution Buffer* foi utilizado na eluição do DNA fixado na membrana de sílica.

4.12. Análise microbiológica pela reação em cadeia da polimerase em tempo real

A quantificação dos microrganismos em análise foi realizada por comparação do ciclo que cruza a linha de *threshold* (Ct), ou seja, ciclo no qual a fluorescência se torna detectável acima da fluorescência de fundo (*background*), e é inversamente proporcional ao logaritmo do número de moléculas iniciais alvo obtido das amostras com os valores de Ct determinados de uma curva padrão construída com amostras (concentrações) conhecidas de DNA. Em adição, controles positivos e negativos foram empregados no estudo, sendo que o controle negativo não possui amostra, apenas água ultrapura *MilliUNI* e o controle positivo constitui em uma análise de Carga Total de bactérias utilizando-se uma cepa Universal para bactérias em que todas as amostras foram submetidas.

A qPCR foi realizada no aparelho *7500 Fast Real-Time PCR System* da *Applied Biosystems* na seguinte condição: um ciclo inicial a 95°C por cinco minutos; 40 ciclos de 95°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por um minuto; e um ciclo final de 72°C por cinco minutos.

A concentração dos *primers*, bem como as condições ideais para que ocorra o processo de amplificação (concentrações dos reagentes/determinação das temperaturas envolvidas) foram previamente estabelecidas para cada conjunto de *primers* incluído no estudo. Os *primers* empregados foram desenhados de acordo com a sequência específica de cada microrganismo envolvido. A busca das sequências alvo desejadas foi feita por consulta ao *NCBI Nucleotide Search* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). O software *Primer 3* (<http://frodo.wi.mit.edu/>) foi utilizado para a confecção dos *primers*. Em seguida, os mesmos foram testados, em

relação à especificidade, empregando o programa *NCBI BLAST* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). As cepas padrão ATCC (*American Type Culture Collection*®) para a confecção dos *primers* foram *P. gingivalis* (ATCC 33277); *T. forsythia* (ATCC 43037); *T. denticola* (ATCC 33521); e *A. actinomycetemcomitans* (ATCC 29523). A qPCR foi empregada com o sistema de detecção *TaqMan*® *Universal Master Mix PCR*. A Tabela 1 apresenta os *primers* específicos e sondas que foram utilizados.

Tabela 1 – Descrição dos *primers* que foram utilizados no estudo

Microrganismo	Primers e Sondas
Carga total	<p><i>For</i> TGGAGCATGTGGTTTAATTCTGA</p> <p><i>Rev</i> TGCGGGACTTAACCCAACA</p> <p><i>Probe</i> CACGAGCTGACGACAAGCCATGCA</p>
<i>T. forsythia</i>	<p><i>For</i> AGCGATGGTAGCAATACCTGTC</p> <p><i>Rev</i> TTCGCCGGGTTATCCCTC</p> <p><i>Probe</i> CACGGGTGAGTAACG</p>
<i>T. denticola</i>	<p><i>For</i> CCGAATGTGCTCATTTACATAAAGGT</p> <p><i>Rev</i> GATACCCATCGTTGCCTTGGT</p> <p><i>Probe</i> ATGGGCCCGCGTCCCATTAGC</p>
<i>P. gingivalis</i>	<p><i>For</i> ACCTTACCCGGGATTGAAATG</p> <p><i>Rev</i> CAACCATGCAGCACCTACATAGAA</p> <p><i>Probe</i> ATGACTGATGGTGAAAACCGTCTTCCCTTC</p>
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<p><i>For</i> CAAGTCTGATTAGGTAGTTGGTGGG</p> <p><i>Rev</i> TTCATTACGCGGCATGGC</p> <p><i>Probe</i> ATCGCTAGCTGGTCTGAGAGGATGGCC</p>

4.13. Análise estatística

Os desfechos principais foram as variações entre o *baseline*, em três e em seis meses nos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG. E, as variáveis secundárias os níveis bacterianos, quando da comparação dos valores observados no *baseline*, em três meses e em seis meses.

Os dados descritivos foram apresentados por meio de medidas de tendência central acompanhadas de seus respectivos intervalos de confiança e desvios-padrão. Os resultados foram considerados significativos quando houve uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$), tendo, portanto, pelo menos 95% de nível de confiança.

O teste Análise de Variância (baseado em um planejamento de Medidas Repetidas) foi utilizado para avaliar a influência do grupo de indivíduos com obesidade e da fase de avaliação.

O teste não-paramétrico *Kruskal-Wallis* foi utilizado para comparação entre grupos independentes em relação às variáveis de interesse.

O teste de *Friedman* (não-paramétrico) foi utilizado na comparação de três ou mais medidas.

A análise de correlação *de Spearman* foi utilizada como uma forma de avaliar a relação entre duas variáveis de interesse.

5. RESULTADOS

Participaram do estudo 82 indivíduos que foram divididos em quatro grupos: peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II. Os grupos se apresentaram semelhantes em relação ao gênero, idade e cor (Tabela 2).

Tabela 2 – Características gerais dos participantes

Variável	Grupo				p
	Peso normal	Sobrepeso	Obesidade I	Obesidade II	
Gênero					
Feminino	13 (72,20%)	12 (57,10%)	14 (63,60%)	14 (66,70%)	0,904 ^A
Masculino	5 (27,80%)	9 (42,90%)	8 (36,40%)	7 (33,30%)	
Idade	50,7 ± 10,9 Md = 51,0	48,6 ± 9,6 Md = 47,0	50,3 ± 7,1 Md = 49,0	48,9 ± 7,8 Md = 49,0	0,935 ^C
Cor					
Branca	15 (83,30%)	21 (100,00%)	19 (86,40%)	19 (90,50%)	0,305 ^B
Negra	3 (16,70%)	0 (0,00%)	3 (13,60%)	2 (9,50%)	

Base de dados: 82 participantes → peso normal (18), sobrepeso (21), obesidade I (22) e obesidade II (21)

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste Qui-quadrado (A), teste exato de Fisher (B) e à Análise de Variância (C)

Quando da avaliação dos dados clínicos (PS, NCI, IP e IG), não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos tanto em três como em seis meses de análise. A representação desses dados está expressa nas Figuras 2, 3 e 4.

Nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II observou-se redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros PS, NCI e IP na avaliação realizada aos três meses após a terapia periodontal OSFMD, e se manteve aos seis meses (Figuras 5, 6, 7 e 8). Porém, para o grupo obesidade I, também houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no parâmetro clínico IG na avaliação realizada aos seis meses (Figura 7).

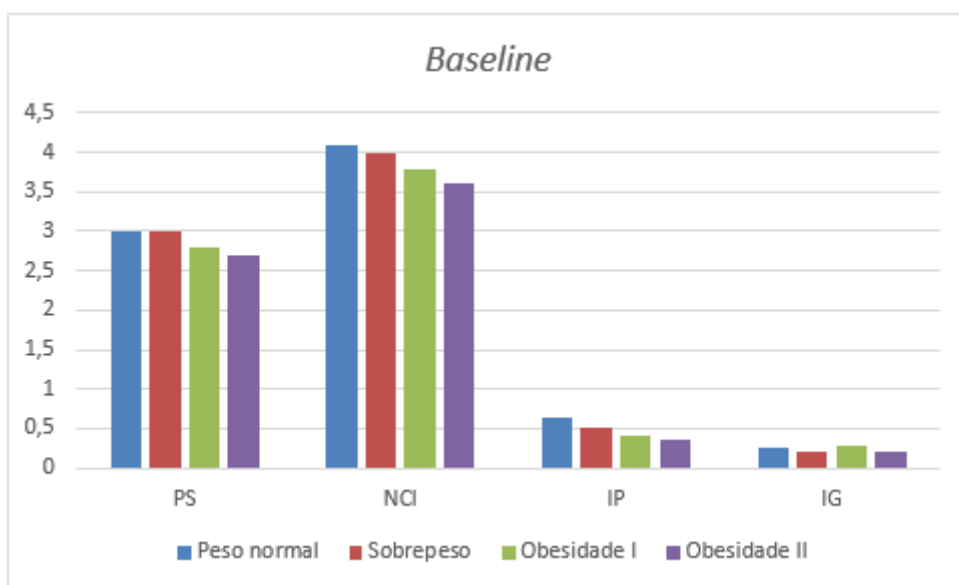


Figura 2 – Avaliação dos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG entre os grupos no *baseline* – Análise de Variância e *kruskal-Wallis*

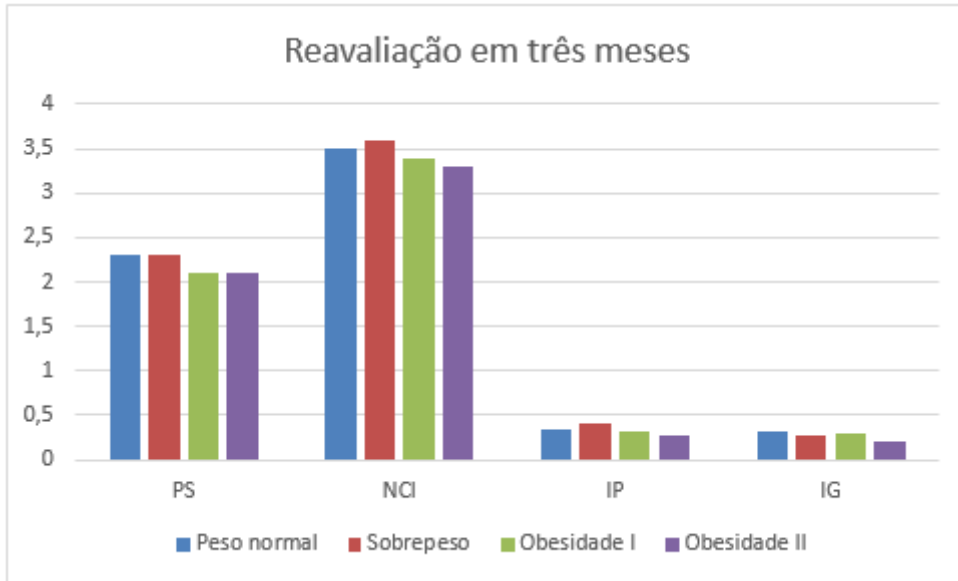


Figura 3 – Avaliação dos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG entre os grupos aos três meses após a terapia periodontal OSFMD – Análise de Variância e teste *kruskal-Wallis*

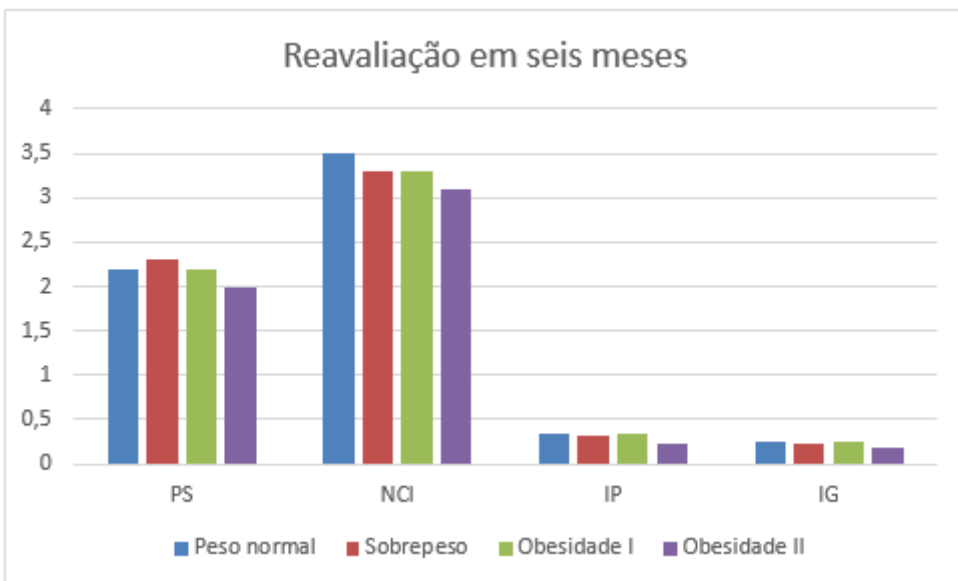


Figura 4 – Avaliação dos parâmetros clínicos PS, NCI, IP e IG entre os grupos aos seis meses após a terapia periodontal OSFMD – Análise de Variância e teste *kruskal-Wallis*

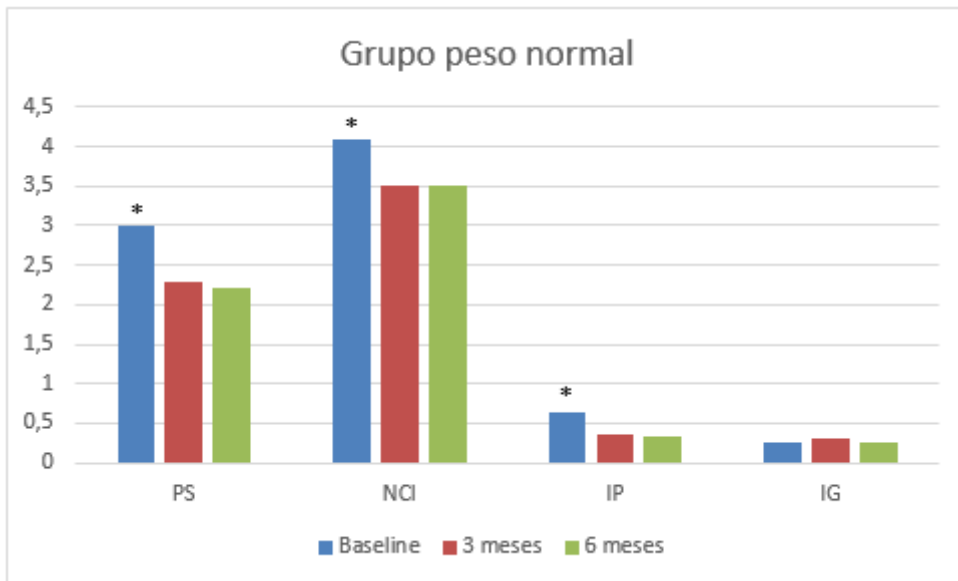


Figura 5 – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo peso normal

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman*

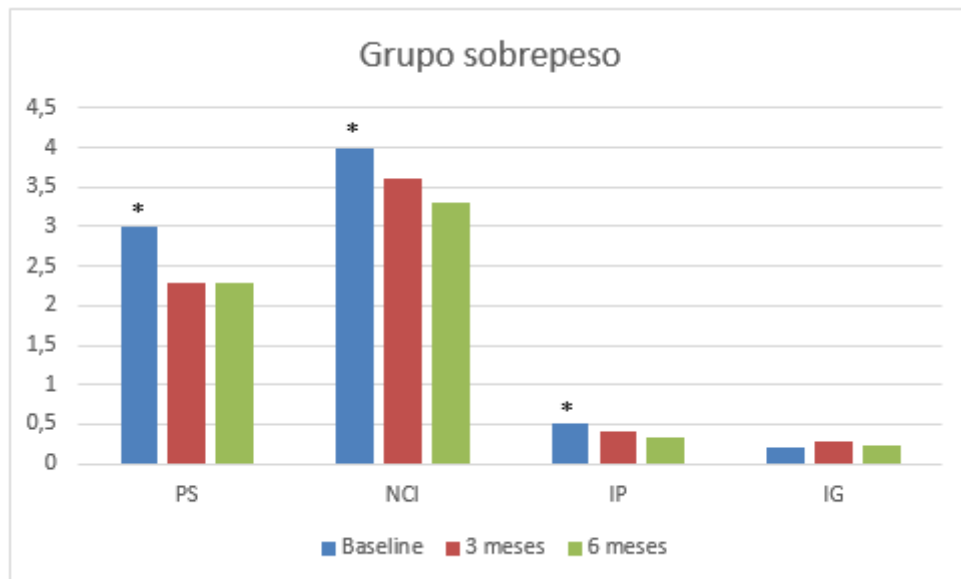


Figura 6 – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo sobrepeso

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman*

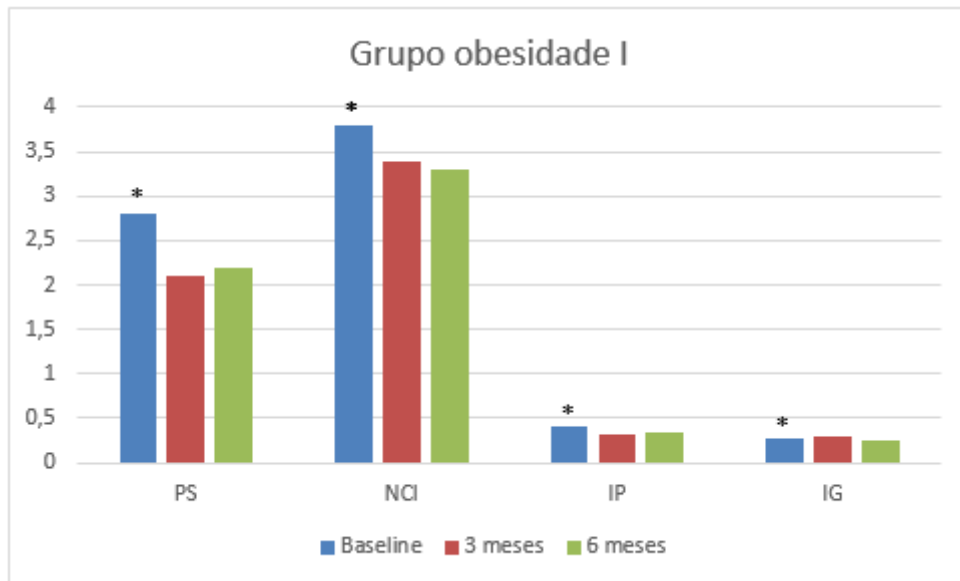


Figura 7 – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo obesidade I

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman*

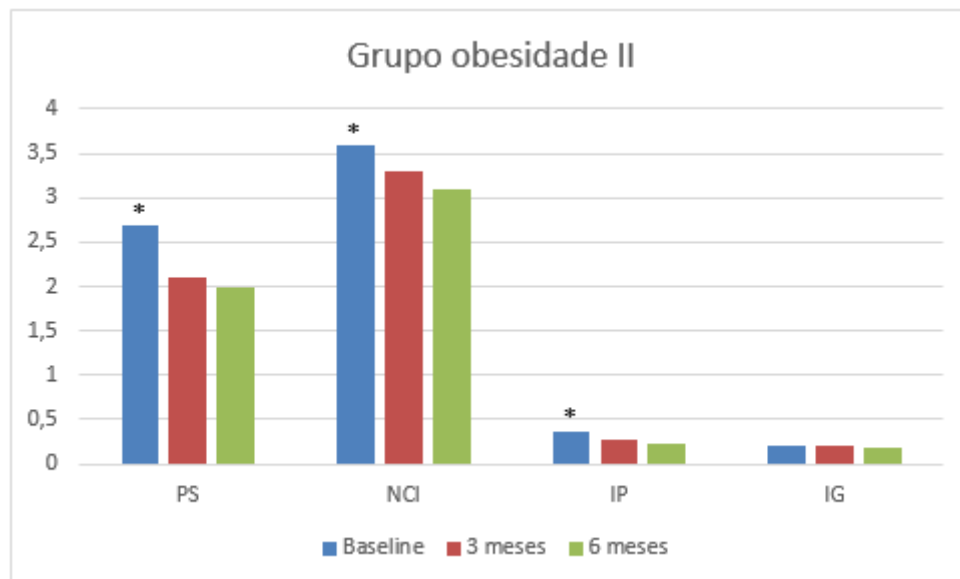


Figura 8 – Avaliação dos parâmetros clínicos (PS, NCI, IP e IG) no *baseline*, três e seis meses no grupo obesidade II

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Análise de Variância e teste de *Friedman*

A análise para os dados microbianos mostrou-se da seguinte forma: não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os grupos para a carga total

bacteriana, *T. denticola*, *P. gingivalis* e *T. forsythia* ao longo do estudo (Figuras 9, 10 e 11).

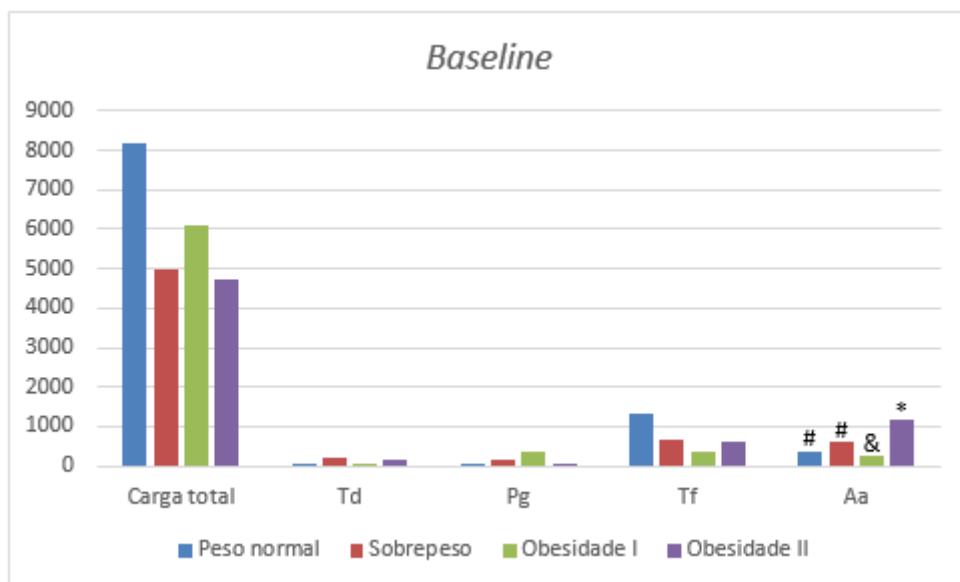


Figura 9 – Análise da Carga total bacteriana e das bactérias *T. denticola* (Td), *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythia* (Tf) e *A. actinomycetemcomitans* (Aa) no *baseline*
*, #, & = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – teste de *Kruskal-Wallis*

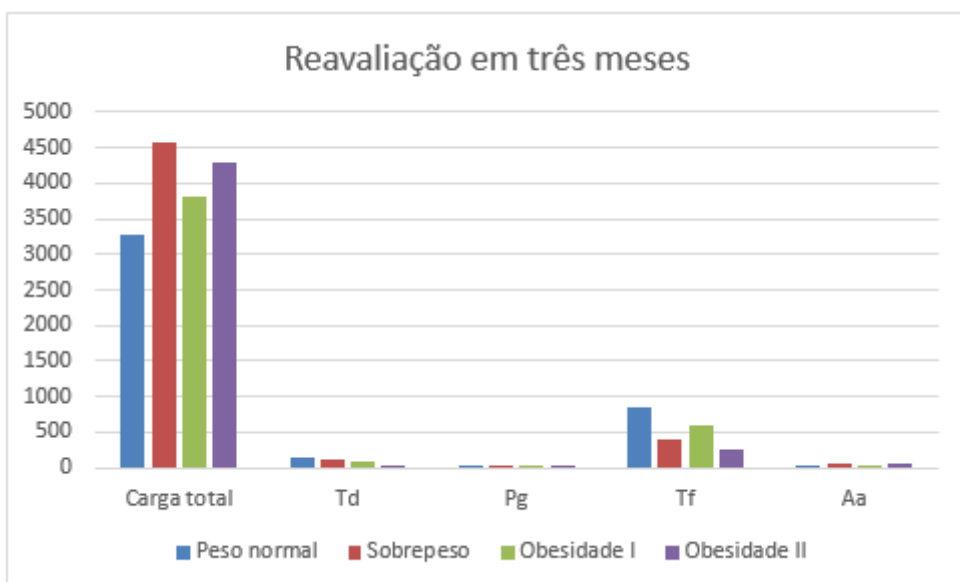


Figura 10 – Análise da Carga total bacteriana e das bactérias *T. denticola* (Td), *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythia* (Tf) e *A. actinomycetemcomitans* (Aa) aos três meses após a terapia periodontal OSFMD – teste de *Kruskal-Wallis*

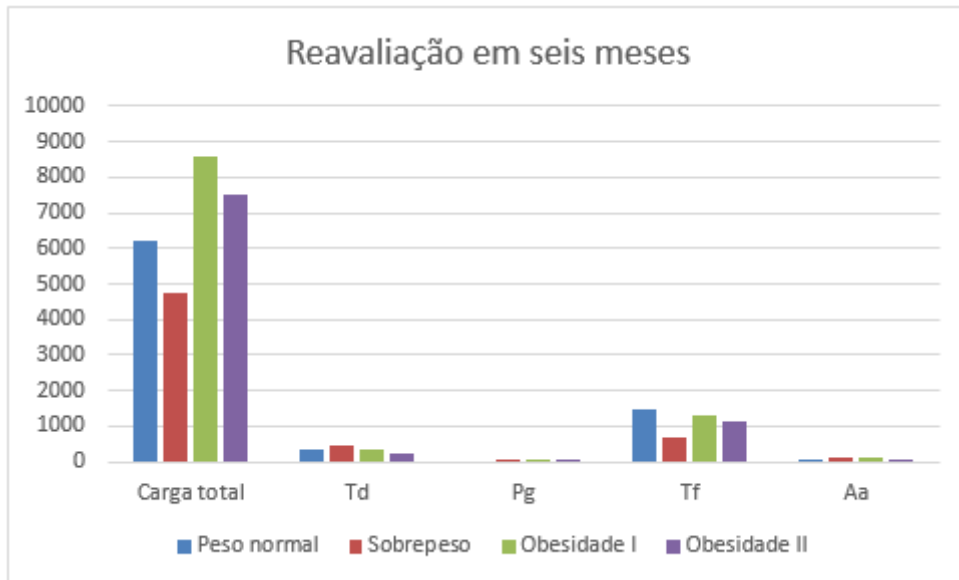


Figura 11 – Análise da Carga total bacteriana e das bactérias *T. denticola* (Td), *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythia* (Tf) e *A. actinomycetemcomitans* (Aa) aos seis meses após a terapia periodontal OSFMD – teste de *Kruskal-Wallis*

Em relação à análise da quantidade de bactérias observou-se que para Carga total bacteriana, *T. denticola* e *T. forsythia* não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) nos grupos entre o *baseline*, três meses e seis meses após a terapia OSFMD (Figuras 12, 13 e 14). Porém, para *P. gingivalis* houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) aos três meses após a terapia periodontal OSFMD, se mantendo aos seis meses nos grupos peso normal, sobrepeso e obesidade II; já no grupo obesidade I, não foi identificada diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as fases (Figura 15).

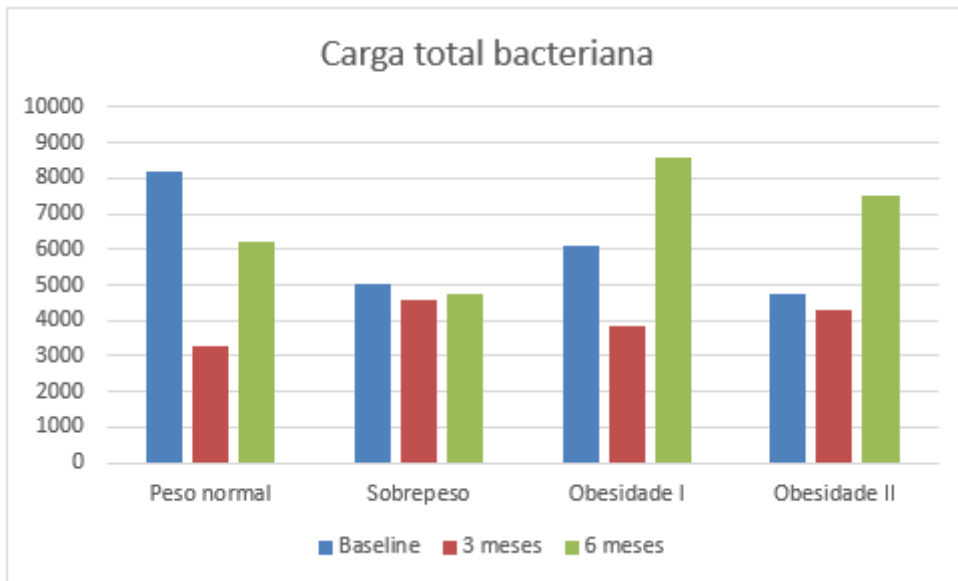


Figura 12 – Quantificação de Carga total bacteriana nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo – teste de *Friedman*

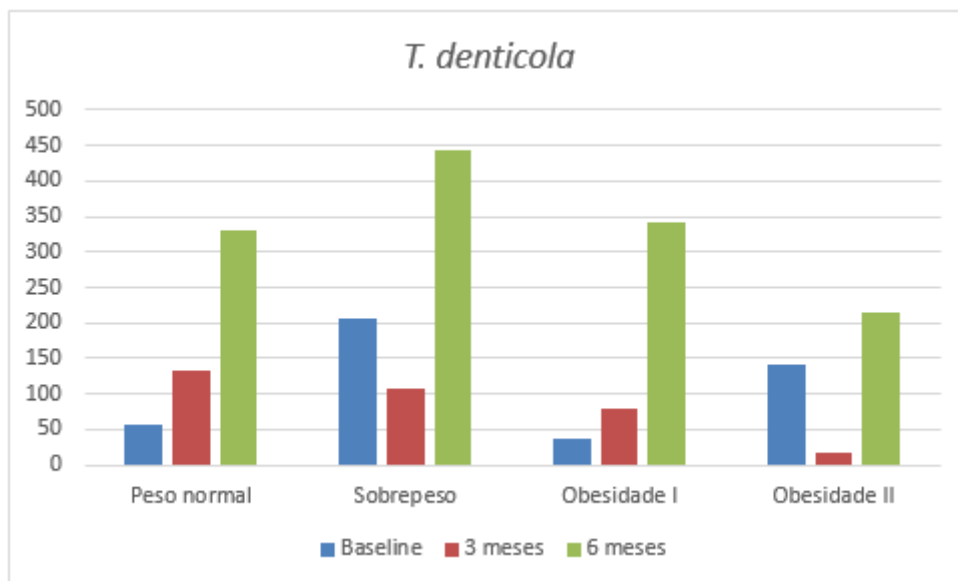


Figura 13 – Quantificação de *T. denticola* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo – teste de *Friedman*

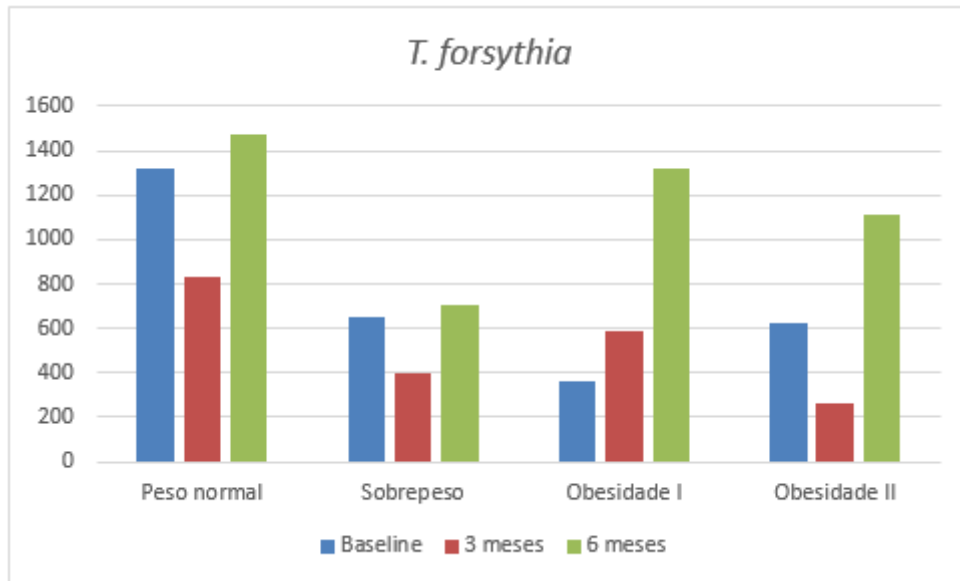


Figura 14 – Quantificação de *T. forsythia* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo – teste de *Friedman*

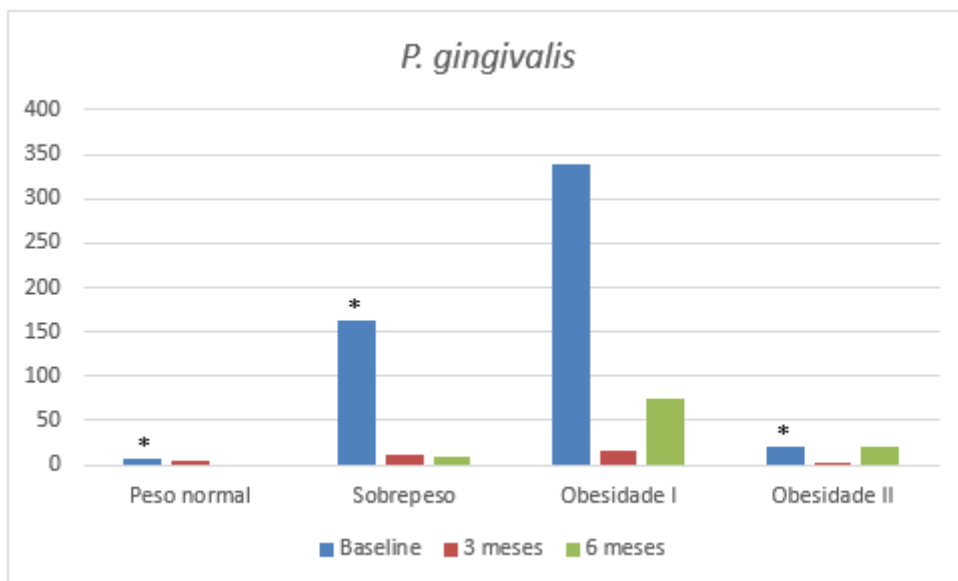


Figura 15 – Quantificação de *P. gingivalis* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – teste de *Friedman*

Quando da avaliação dos resultados para a quantidade de *A. actinomycetemcomitans*, foi observada diferença estatisticamente significativa

($p < 0,05$) entre os grupos no *baseline*, identificando maiores valores no grupo obesidade II, seguido dos grupos peso normal, sobrepeso e obesidade I, respectivamente (Figura 9). Na avaliação após a terapia periodontal OSFMD aos três meses e aos seis meses, não foi identificada diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Figuras 10 e 11). Ao longo do estudo foi observada redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todos os grupos na reavaliação de três meses, se mantendo aos seis meses (Figura 16).

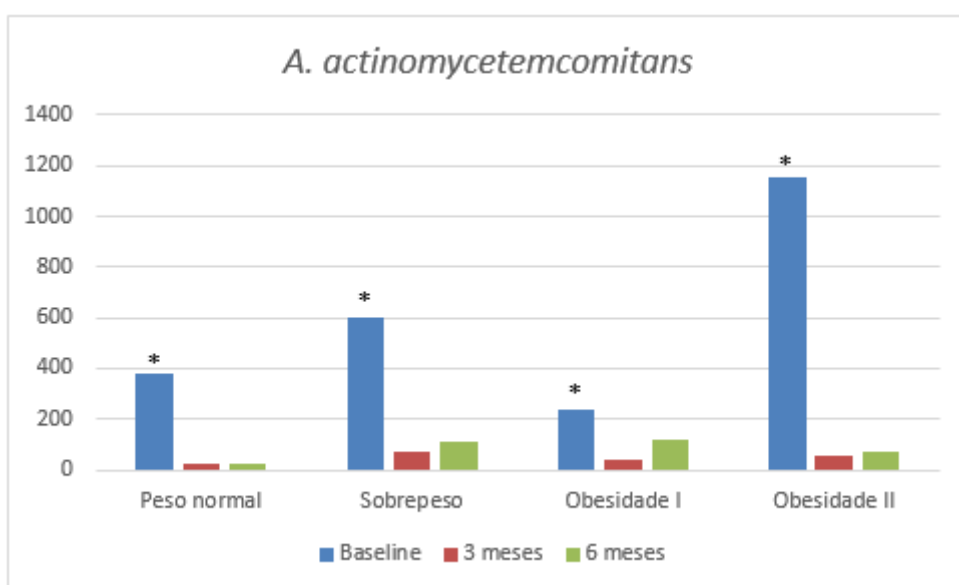


Figura 16 – Quantificação de *A. actinomycetemcomitans* nos grupos peso normal, sobrepeso, obesidade I e obesidade II ao longo do estudo

* = diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – teste de *Friedman*

Com base na análise de *Spearman*, correlacionamos os dados clínicos e microbianos para cada um dos grupos, ilustrados nas Tabelas 4 a 7. Observou-se correlação moderada entre IP e *A. actinomycetemcomitans* e correlação forte entre IG e *A. actinomycetemcomitans* no grupo peso normal no *baseline*. Aos seis meses após a terapia periodontal OSFMD no grupo peso normal obteve-se correlação moderada entre NCI e *A. actinomycetemcomitans* e entre IG e *T. denticola*. No grupo sobrepeso

IG se correlacionou moderadamente com *T. denticola* aos seis meses do estudo. No grupo obesidade I houve correlação moderada entre IP e *P. gingivalis* aos seis meses após a terapia periodontal OSFMD. Já o grupo obesidade II obteve correlação moderada aos três meses entre PS e *T. forsythia*, NCI com *T. denticola* e *T. forsythia*, IP com *T. denticola* e IG e *T. denticola*. Aos seis meses do estudo foi observada correlação moderada entre PS e *T. forsythia*, NCI e *T. denticola*, IP e *T. denticola* e IG e *T. denticola* no grupo obesidade II.

Tabela 3 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos no grupo peso normal

Fase	Dados microbianos	Dados clínicos			
		PS	NCI	IP	IG
Baseline	Contagem total	-0,05 (0,855)	0,59 (0,010)	0,35 (0,152)	-0,21 (0,414)
	Td	0,42 (0,086)	0,07 (0,791)	0,41 (0,095)	-0,03 (0,906)
	Pg	0,04 (0,871)	0,19 (0,443)	0,01 (0,955)	-0,10 (0,690)
	Tf	0,42 (0,081)	0,09 (0,729)	0,33 (0,185)	0,14 (0,587)
	Aa	-0,40 (0,097)	0,01 (0,984)	0,61 (0,007)	0,82 (< 0,001)
3 meses	Contagem total	0,03 (0,916)	0,01 (0,971)	0,14 (0,576)	-0,03 (0,912)
	Td	0,46 (0,054)	0,39 (0,113)	0,11 (0,669)	0,24 (0,335)
	Pg	0,17 (0,495)	0,33 (0,188)	0,39 (0,110)	0,33 (0,183)
	Tf	0,45 (0,063)	0,10 (0,698)	-0,26 (0,295)	0,04 (0,890)
	Aa	0,27 (0,275)	0,5 (0,036)	0,07 (0,798)	0,08 (0,738)
6 meses	Contagem total	0,09 (0,726)	0,31 (0,213)	0,29 (0,241)	0,19 (0,457)
	Td	0,46 (0,056)	0,42 (0,084)	0,23 (0,369)	0,65 (0,004)
	Pg	0,19 (0,440)	0,44 (0,065)	0,06 (0,808)	0,01 (0,976)
	Tf	0,29 (0,239)	0,25 (0,325)	-0,03 (0,906)	0,37 (0,126)
	Aa	0,44 (0,068)	0,61 (0,007)	0,16 (0,531)	0,50 (0,037)

NOTA: Os valores da tabela referem-se ao coeficiente de correlação de *Spearman* (**r**) e a probabilidade de significância (**p**)
 Td = *T. denticola*; Pg = *P. gingivalis*; Tf = *T. forsythia*; Aa = *A. actinomycetemcomitans*; PS = profundidade de sondagem; NCI = nível clínico de inserção; IP = índice de placa; IG = índice gengival.

Tabela 4 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos grupo sobrepeso

Fase	Dados microbianos	Dados clínicos			
		PS	NCI	IP	IG
Baseline	Contagem total	-0,06 (0,803)	-0,19 (0,420)	0,05 (0,836)	-0,10 (0,659)
	Td	-0,06 (0,808)	0,01 (0,955)	0,10 (0,676)	-0,19 (0,406)
	Pg	-0,02 (0,918)	-0,05 (0,819)	-0,16 (0,478)	0,26 (0,252)
	Tf	-0,25 (0,265)	-0,23 (0,308)	-0,04 (0,867)	0,03 (0,904)
	Aa	0,29 (0,201)	0,39 (0,080)	0,03 (0,895)	-0,09 (0,684)
3 meses	Contagem total	-0,20 (0,386)	-0,18 (0,444)	-0,14 (0,548)	0,18 (0,438)
	Td	-0,06 (0,806)	0,20 (0,377)	0,09 (0,701)	0,47 (0,031)
	Pg	0,13 (0,572)	0,19 (0,411)	-0,16 (0,480)	0,22 (0,329)
	Tf	0,02 (0,942)	0,12 (0,604)	-0,09 (0,689)	0,18 (0,423)
	Aa	-0,11 (0,622)	0,04 (0,849)	-0,21 (0,357)	0,36 (0,106)
6 meses	Contagem total	0,11 (0,634)	0,04 (0,860)	0,12 (0,608)	0,30 (0,183)
	Td	0,25 (0,278)	0,42 (0,058)	0,38 (0,090)	0,65 (0,001)
	Pg	0,03 (0,913)	0,26 (0,256)	-0,22 (0,334)	-0,19 (0,418)
	Tf	0,18 (0,439)	0,16 (0,494)	0,14 (0,534)	0,04 (0,853)
	Aa	0,53 (0,014)	0,15 (0,527)	-0,05 (0,838)	0,35 (0,116)

NOTA: Os valores da tabela referem-se ao coeficiente de correlação de *Spearman* (**r**) e a probabilidade de significância (**p**)
Td = *T. denticola*; Pg = *P. gingivalis*; Tf = *T. forsythia*; Aa = *A. actinomycetemcomitans*; PS = profundidade de sondagem; NCI = nível clínico de inserção; IP = índice de placa; IG = índice gengival.

Tabela 5 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos no grupo obesidade I

Fase	Dados microbianos	Dados clínicos			
		PS	NCI	IP	IG
Baseline	Contagem total	0,01 (0,996)	0,38 (0,083)	0,32 (0,148)	-0,33 (0,130)
	Td	0,04 (0,871)	0,23 (0,306)	0,13 (0,573)	-0,38 (0,079)
	Pg	0,34 (0,122)	0,09 (0,707)	0,30 (0,179)	0,04 (0,864)
	Tf	-0,02 (0,922)	0,22 (0,331)	0,18 (0,436)	-0,29 (0,185)
	Aa	0,05 (0,820)	0,11 (0,631)	0,11 (0,636)	-0,35 (0,108)
3 meses	Contagem total	0,29 (0,189)	0,03 (0,887)	0,2 (0,381)	0,27 (0,229)
	Td	0,46 (0,031)	0,12 (0,597)	0,27 (0,224)	0,31 (0,167)
	Pg	0,40 (0,067)	0,16 (0,484)	0,09 (0,692)	-0,03 (0,886)
	Tf	0,35 (0,110)	0,14 (0,542)	0,23 (0,306)	0,21 (0,338)
	Aa	0,36 (0,101)	0,32 (0,147)	-0,09 (0,706)	0,14 (0,541)
6 meses	Contagem total	0,13 (0,571)	0,03 (0,899)	0,34 (0,125)	0,26 (0,246)
	Td	0,36 (0,100)	-0,04 (0,877)	0,29 (0,192)	0,31 (0,163)
	Pg	0,34 (0,121)	0,09 (0,684)	0,46 (0,031)	0,22 (0,326)
	Tf	0,28 (0,215)	0,07 (0,750)	0,35 (0,107)	0,40 (0,068)
	Aa	-0,11 (0,633)	-0,09 (0,676)	0,07 (0,770)	0,08 (0,737)

NOTA: Os valores da tabela referem-se ao coeficiente de correlação de Spearman (**r**) e a probabilidade de significância (**p**)

Td = *T. denticola*; Pg = *P. gingivalis*; Tf = *T. forsythia*; Aa = *A. actinomycetemcomitans*; PS = profundidade de sondagem; NCI = nível clínico de inserção; IP = índice de placa; IG = índice gengival.

Tabela 6 – Avaliação da relação entre dados clínicos e microbianos no grupo obesidade II

Fase	Dados microbianos	Dados clínicos			
		PS	NCI	IP	IG
Baseline	Contagem total	0,25 (0,297)	0,13 (0,606)	-0,09 (0,699)	-0,22 (0,361)
	Td	0,29 (0,234)	0,09 (0,700)	0,12 (0,618)	-0,07 (0,774)
	Pg	0,16 (0,523)	0,3 (0,218)	0,04 (0,875)	-0,03 (0,892)
	Tf	0,21 (0,395)	0,01 (0,960)	-0,15 (0,546)	-0,09 (0,709)
	Aa	-0,15 (0,545)	-0,03 (0,915)	-0,3 (0,215)	-0,21 (0,383)
3 meses	Contagem total	-0,34 (0,138)	-0,05 (0,84)	0,02 (0,932)	0,37 (0,108)
	Td	0,24 (0,299)	0,45 (0,048)	0,46 (0,044)	0,52 (0,018)
	Pg	0,43 (0,059)	0,25 (0,279)	0,15 (0,540)	0,34 (0,147)
	Tf	0,46 (0,043)	0,49 (0,029)	0,18 (0,438)	0,38 (0,098)
	Aa	-0,32 (0,162)	0,09 (0,691)	0,19 (0,418)	0,12 (0,604)
6 meses	Contagem total	0,32 (0,168)	0,29 (0,223)	0,19 (0,420)	0,12 (0,603)
	Td	0,44 (0,054)	0,59 (0,006)	0,56 (0,010)	0,53 (0,016)
	Pg	0,17 (0,463)	0,36 (0,124)	0,16 (0,509)	0,30 (0,198)
	Tf	0,50 (0,024)	0,34 (0,146)	0,20 (0,403)	0,11 (0,658)
	Aa	0,08 (0,748)	0,03 (0,897)	0,53 (0,017)	0,22 (0,359)

NOTA: Os valores da tabela referem-se ao coeficiente de correlação de Spearman (**r**) e a probabilidade de significância (p).

Td = *T. denticola*; Pg = *P. gingivalis*; Tf = *T. forsythia*; Aa = *A. actinomycetemcomitans*; PS = profundidade de sondagem; NCI = nível clínico de inserção; IP = índice de placa; IG = índice gengival.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo foram alocados 43 indivíduos considerados obesos por suas medidas de IMC e circunferência abdominal e 39 indivíduos de peso normal ou com sobrepeso. Os nossos dados mostrados na tabela, mostram que os todos os indivíduos incluídos apresentavam dentro dos seus respectivos grupos características semelhantes em relação ao gênero, idade e cor, o que nos permitiu eliminar essas características como possíveis fatores de confusão quando da análise prospectiva dos dados. Um aspecto importante a ser destacado é o fato de que mesmo com uma maior dificuldade de alocação e motivação dos nossos grupos de obesos eles se mantiveram constantes no estudo não oferecendo quebras na continuidade do estudo até os seis meses de investigação.

Como já é sabido pela literatura científica disponível, a resposta à terapia periodontal clássica pode variar entre indivíduos e ou entre sítios periodontais e a provável recolonização bacteriana desses sítios pode comprometer o sucesso da terapia (Quirynen et al., 1995; Wennstrom et al., 2005; Cionca et al., 2009). Para minimizar este fato é compreensível que a manutenção de uma microbiota saudável passa a ser um desafio para o periodontista (Sbordone et al., 1990; Beikler et al., 2004).

Com o desenvolvimento de novos protocolos de atendimento clínico periodontal estudos tem mostrado os benefícios da terapia periodontal OSFMD em indivíduos de peso normal (Lang et al., 2008; Cortelli et al., 2009; Keestra et al., 2014) todavia, poucos são ainda os relatos mostrando a o comportamento deste modelo terapêutico quando da inclusão de indivíduos obesos com a doença periodontal. Logo,

hipotetizamos neste estudo que a terapia periodontal OSFMD seria também eficaz na população obesa aqui incluída, portanto nosso objetivo foi testar esta hipótese por meio da avaliação de parâmetros clínicos e de microrganismos frequentemente associados a doença periodontal crônica.

De acordo com os nossos resultados clínicos observamos que em geral houve redução estatisticamente significativa de todos os parâmetros periodontais investigados e em todos os indivíduos alocados, inclusive os obesos. Especificamente quando avaliamos os parâmetros PS, NCI e IP após três meses da terapia periodontal OSFMD, verificamos que no grupo obesidade I também houve redução estatisticamente significativa no parâmetro IG na avaliação realizada aos seis meses. Uma observação importante foi o fato de que a redução desses parâmetros clínicos se manteve por todo o período investigado, ou seja, seis meses. Este dado permitiu inferir que a terapia periodontal OSFMD foi eficaz no tratamento da doença periodontal crônica em todos os indivíduos, independentemente do IMC. Além do nosso estudo, podemos encontrar na literatura científica disponível estudos que avaliaram os efeitos da terapia periodontal, de raspagem e alisamento radicular, em indivíduos obesos, obtendo também a redução nos valores de PS e NCI, na inflamação gengival e nos níveis de citocinas inflamatórias (Zuza et al., 2011; Al-Zahrani et al., 2012; Lakiis et al., 2012). Os achados destes autores citados mostram uma concordância com os nossos resultados. Um outro estudo confirmatório dos nossos achados foi o publicado por López et al. (2012), estes autores mostraram redução estatisticamente significativa nos parâmetros clínicos periodontais, conseqüentemente na redução da inflamação, e nos níveis de proteína C-reativa em indivíduos obesos. O estudo de Al-Zahrani et al. (2012), que avaliou o efeito do tratamento periodontal e os níveis de proteína C-reativa em mulheres obesas e de peso normal, com periodontite, os

autores concluíram que houve redução da inflamação sistêmica e nos níveis de proteína C-reativa após a terapia periodontal tanto nas mulheres obesas quanto nas de peso normal, ratificando que a obesidade não influenciou de modo negativo a resposta à terapia periodontal.

A reação em cadeia da polimerase é um método de amplificação do DNA específico e rápido para detectar (qualitativamente) bactérias patogênicas associadas à doença periodontal em amostras clínicas. Atualmente a qPCR, uma ferramenta que permite quantificar um DNA alvo com a utilização de sondas fluorogênicas específicas se tornou uma ferramenta de investigação mais precisa. Outra vantagem que pode ser destacada da qPCR é que esta é realizada em um sistema fechado e, após a amplificação, esse material é descartado, o que evita contaminações e resultados falso-positivos. Ao utilizar a qPCR no presente estudo, quantificamos amostras bacterianas de bolsas periodontais das espécies implicadas do complexo vermelho (*P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*) e para *A. actinomycetemcomitans*.

As bactérias do complexo vermelho são consideradas as mais prevalentes na doença periodontal crônica e são, provavelmente, os primeiros patógenos envolvidos na destruição clínica dos tecidos periodontais (Carinci et al., 2013). No presente estudo não encontramos diferença estatisticamente significativa para Carga total bacteriana, *T. denticola* e *T. forsythia* nos grupos ao longo do estudo, mesmo havendo uma tendência de redução na avaliação de três meses após a terapia periodontal. Observamos ainda uma tendência ao aumento na média da quantidade dessas bactérias na avaliação realizada aos seis meses. Também constatamos que o perfil bacteriano dos grupos se mostrou igual estatisticamente. Nossos achados diferem do estudo de Fonseca et al. (2015), que também utilizaram o método de qPCR para detecção e quantificação de bactérias e obtiveram redução estatisticamente

significativa após a terapia periodontal OSFMD na contagem total de bactérias e nas bactérias *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia*, porém em indivíduos sem determinação de IMC. Segundo o estudo de Guarnelli et al. (2010), que utilizou a qPCR para comparar os efeitos clínicos e microbiológicos em indivíduos fumantes e não fumantes com periodontite agressiva, observaram redução estatisticamente significativa de periodontopatógenos do complexo vermelho e carga total bacteriana, sem determinação de IMC, após a terapia periodontal ultrassônica, o que também diferiu dos nossos achados. Levando em consideração o fato de que ainda são poucos os estudos avaliando a frequência de patógenos da doença periodontal em indivíduos obesos (Maciel et al., 2016; Pataro et al., 2016) mais estudos clínicos semelhantes ao nosso devem ser conduzidos para uma comparação de dados.

Porphyromonas gingivalis é um microrganismo Gram-negativo que pode ser encontrado em diferentes locais, como bolsas periodontais, mucosa oral e língua (Cortelli et al., 2013). Na contagem de *P. gingivalis* tivemos uma redução estatisticamente significativa após a terapia periodontal OSFMD aos três meses, e essa redução se manteve igual aos seis meses nos grupos controle, sobrepeso e obesidade II. Concordando com os nossos achados, o estudo de Cortelli et al. (2013) constatou redução estatisticamente significativa na contagem de *P. gingivalis* em 90 dias após a terapia periodontal de indivíduos com periodontite crônica, porém sem determinação de IMC. Em contra partida, difere com o nosso resultado do grupo obesidade I, em que não houve redução significativa após a terapia periodontal, embora haja uma tendência à redução. Já o estudo de Moreira et al. (2011) não identificou diferença estatisticamente significativa na detecção de *P. gingivalis* da avaliação inicial até 28 dias após o tratamento periodontal de indivíduos com doença periodontal crônica generalizada, porém seu método de detecção foi por cultivo

microbiológico de amostras de placa subgengival, que não é tão sensível quanto a qPCR. Como os níveis de *P. gingivalis* estão geralmente relacionados às bolsas periodontais mais profundas, sua redução pode estar associada com a melhora nos valores de PS desses indivíduos

Aggregatibacter actinomycetemcomitans é uma bactéria do tipo bastonete gram-negativa anaeróbia facultativa, considerada um dos principais patógenos da doença periodontal. É encontrada com maior prevalência em indivíduos portadores de periodontite agressiva, porém tem sido encontrada na doença periodontal crônica (em menor número) (Raslan et al., 2011). No presente estudo, verificamos maior proporção de *A. actinomycetemcomitans* na avaliação inicial no grupo obesidade II, o que era esperado já que Maciel et al. (2016) identificaram maiores proporções de *A. actinomycetemcomitans* em obesos com periodontite crônica do que em indivíduos de peso normal com periodontite crônica. Um fato interessante é que o grupo obesidade I apresentou os menores valores de *A. actinomycetemcomitans*. Também constatamos no presente estudo a redução estatisticamente significativa de *A. actinomycetemcomitans* em todos os grupos na reavaliação de três meses, sendo que essa redução se manteve aos seis meses. Esse resultado se mostra interessante, pois foi a única bactéria analisada que reduziu estatisticamente em todos os grupos após o protocolo OSFMD ter sido aplicado, concordando com o estudo de Fonseca et al. (2015) em que identificaram redução estatisticamente significativa 90 dias após a terapia periodontal OSFMD, se mantendo em 180 dias. Divergindo dos nossos achados, Moreira et al. (2011) não encontraram diferença estatisticamente significativa após a terapia periodontal em indivíduos portadores da doença periodontal.

Pode-se notar que *A. actinomycetemcomitans* foi a única bactéria que se mostrou com níveis diferentes estatisticamente nos grupos no *baseline*. Também pode-se relacionar a melhora significativa dos parâmetros clínicos periodontais com a redução significativa de *A. actinomycetemcomitans* após a terapia OSFMD, o que nos leva a acreditar que mais estudos devem ser elaborados para avaliar o real papel de *A. actinomycetemcomitans* na doença periodontal crônica em indivíduos obesos.

7. CONCLUSÃO

A obesidade não influenciou de modo negativo a resposta à terapia periodontal, pois o protocolo OSFMD foi eficaz no tratamento da periodontite crônica em todos os grupos, independentemente do IMC.

REFERÊNCIAS

1. WHO (2013). WHO Overweight and Obesity Fact Sheet No311. URL accessed on 10/10/2013 at:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
2. WHO (2016). WHO Prevalence of obesity. URL accessed on 20/03/2017 at:
http://gamapserver.who.int/gho/interactive_charts/ncd/risk_factors/obesity/atlas.html.
3. Doyle SL, Lysaght J, Reynolds JV. Obesity and post-operative complications in patients undergoing non-bariatric surgery. *Obes Rev* 2010; 11: 875-886.
4. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol* 2005; 76: 2075-84.
5. Souza AB, Chambrone L, Okawa RTP, Silva CO, Araújo MG. A obesidade como fator de risco para doença periodontal: Revisão da literatura. *Rev Dental Press Periodontia Implantol* 2010; 4: 74-82.
6. Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res* 2012; 91: 914-920.
7. SB Brasil 2010 MS. Ministry of Health: - National survey of oral health (in Portuguese). Brazilia: Ministry of Health, 2011.
8. Maciel SS, Feres M, Gonçalves TE, Zimmermann GS, da Silva HD, Figueiredo LC, et al. Does obesity influence the subgingival microbiota composition in periodontal health and disease? *J Clin Periodontol* 2016; 43:1003-1012.
9. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-44.
10. Souza AADA, Bezerra CFR, Lima KC, Melo MCN. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e sua relação com a periodontite agressiva – revisão de literatura. *R Periodontia* 2008; 18: 20-25.
11. Kuboniwa M, Inaba H, Amano A. Genotyping to distinguish microbial pathogenicity in periodontitis. *Periodontology* 2000 2010; 54: 136-59.

12. Ready D, D'Aiuto F, Spratt DA, Suvan J, Tonetti MS, Wilson M. Disease severity associated with presence in subgingival plaque of *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Tannerella forsythia*, singly or in combination, as detected by nested multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3380-3.
13. Roças IN, Siqueira Jr JF, Favieri A, Santos KR. Detecção de *Treponema denticola* em casos de abscesso perirradicular agudo. *Pesqui Odontol Bras* 2000; 14: 209-212.
14. Yang HW, Huang YF, Chan Y, Chou MY. Relationship of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes to periodontal condition: prevalence and proportions in subgingival plaque. *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 28-33.
15. Mínguez M, Pousa X, Herrera D, Blasi A, Sánchez MC, León R, et al. Characterization and serotype distribution of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* isolated from a population of periodontitis patients in Spain. *Archives of Oral Biology* 2014; 59: 1359-1367.
16. Cortelli SC, Jorge AO, Cortelli JR, Jordan SF, Haraszthy VI. Detection of highly and minimally leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains in patients with periodontal disease. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17: 183-8.
17. Kachlany SC. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: from threat to therapy. *J Dent Res* 2010; 89: 561-70.
18. Kinane DF, Lindhe J, Trombelli L. Chronic periodontitis. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T editors. *Clinical periodontology and implant dentistry*, 5th edn. Oxford: Blackwell Publishing Ltd 2008: 420-427.
19. Chaffee BW, Weston SJ. Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2010; 81: 1708-24.
20. Zuza EP, Barroso EM, Carrareto AL, Pires JR, Carlos IZ, Theodoro LH, et al. The role of obesity as a modifying factor in patients undergoing non-surgical periodontal therapy. *J Periodontol* 2011; 82: 676-682.
21. Al-Zahrani MS, Alghamdi HS. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein level in obese and normal-weight women affected with chronic periodontitis. *Saudi Med J* 2012; 33: 309-314.

22. Altay U, Gurgan CA, Agbaht K. Changes in inflammatory and metabolic parameters after periodontal treatment in patients with and without obesity. *J Periodontol* 2013; 84: 13-23.
23. Moura-Grec PG, Marsicano JA, Carvalho CA, Sales-Peres SH. Obesity and periodontitis: systematic review and meta-analysis. *Cien Saude Colet* 2014; 19: 1763-72.
24. Keller A, Rohde JF, Raymond K, Heitmann BL. The association between periodontal disease and overweight and obesity: a systematic review. *J Periodontol* 2015; 12: 1-15.
25. López NJ, Quintero A, Casanova PA, Ibieta CI, Baelum V, López R. Effects of periodontal therapy on systemic markers of inflammation in patients with metabolic syndrome: a controlled clinical trial. *J Periodontol* 2012; 83: 267-78.
26. Suvan J, Petrie A, Moles DR, Nibali L, Patel K, Darbar U, et al. Body mass index as a predictive factor of periodontal therapy outcomes. *J Dent Res* 2014; 93: 49-54.
27. Papageorgiou SN, Reichert C, Jäger A, Deschner J. Effect of overweight/obesity on response to periodontal treatment: systematic review and a meta - analysis. *J Clin Periodontol* 2015; 42: 247-261.
28. Öngöz Dede F, Bozkurt Doğan Ş, Balli U, Avci B, Durmuşlar MC, Baratzade T. Glutathione levels in plasma, saliva and gingival crevicular fluid after periodontal therapy in obese and normal weight individuals. *J Periodontal Res* 2016; 6: 1-9.
29. WHO/IASO/IOTF, 2000. <http://www.who.int/diabetes/en/>.
30. Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev* 2011; 12: e381-e404.
31. Mathur LK, Manohar B, Shankarapillai R. Obesity and periodontitis: a clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology* 2011; 15: 240-244.
32. Pradeep AR, Priyanka N, Prasad MVR, Kalra N, Kumari M. Association of progranulin and high sensitivity CRP concentrations in gingival crevicular fluid and serum in chronic periodontitis subjects with and without obesity. *Disease Markers* 2012; 207: 207-213.

33. Pataro AL, Costa FO, Cortelli SC, Cortelli JR, Abreu MH, Costa JE. Association between severity of body mass index and periodontal condition in women. *Clin Oral Investig* 2012; 16: 727-34.
34. Prpic J, Kuis D, Glazar I, Ribarić SP. Association of obesity with periodontitis, tooth loss and oral hygiene in non-smoking adults. *Cent Eur J Public Health* 2013; 21: 196-201.
35. Khan S, Saub R, Vaithilingam RD, Safii SH, Vethakkan SR, Baharuddin NA. Prevalence of chronic periodontitis in an obese population: a preliminary study. *BMC Oral Health* 2015; 29: 1-7.
36. Nakata T, Fujita A, Umeda M, Yoshida H, Inami K, Masuzaki H, et al. The increased ratio of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 versus 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in chronic periodontitis irrespective of obesity. *Springerplus* 2016; 5: 2-7.
37. Pataro AL, Cortelli SC, Abreu MH, Cortelli JR, Franco GC, Aquino DR, et al. Frequency of periodontal pathogens and *Helicobacter pylori* in the mouths and stomachs of obese individuals submitted to bariatric surgery: a cross-sectional study. *J Appl Oral Sci* 2016; 24: 229-38.
38. Armitage, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology* 1999; 4: 1-6.
39. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary. Expert Panel on the identification, evaluation, and treatment of overweight in adults. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 899-917.
40. Academia Americana de Periodontia. *Annals of Periodontology* 1999; 4.
41. Silness J, L oe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-35.
42. L oe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-51.
43. Araujo MBW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, et al. Reproducibility of probing depth measurements using a constant force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. *J Periodontol* 2003; 74: 1736-40.

44. Quirynen M, Bollen CML, Vandekerckhove BNA, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full – vs. partial mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res* 1995; 74: 1459-1467.
45. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 860-66.
46. Wennstrom JL, Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E. Full-mouth ultrasonic debridement versus quadrante scaling and root planing as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 734-743.
47. Cionca N, Giannopoulou C, Ugolotti G, Mombelli A. Amoxicillin and metronidazole as an adjunct to full-mouth scaling and root planning of chronic periodontitis. *J Periodontol* 2009; 80: 364-371.
48. Sbordone L, Ramaglia L, Elio Gulletta F, Iacono V. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *J Periodontol* 1990; 61: 579-584.
49. Beikler T, Abdeen G, Schnitzer S, Salzer S, Ehmke B, Heinecke A, et al. Microbiological shifts in intra and extraoral habitats following mechanical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 2004; 31: 777-783.
50. Lang NP, Tan WC, Krahenmann MA, Zwahlen M. A systematic review of the effects of full-mouth debridement with and without antiseptics in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 8-21.
51. Cortelli SC, Cortelli JR, Holzhausen M, GC Franco, Rebelo RZ, Sonagere AS et al. Essential oils in one-stage full-mouth disinfection: double-blind, randomized clinical trial of long-term clinical, microbial and salivary effects. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 333-342.
52. Keestra JAJ, Coucke W, Quirynen M. One-stage full-mouth disinfection combined with a periodontal dressing: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2014; 41: 157-163.
53. Lakkis D, Bissada NF, Saber A, Khaitan L, Palomo L, Narendran S et al. Response to periodontal therapy in patients who had weight loss after bariatric surgery and obese counterparts: a pilot study. *J Periodontol*. 2012; 83: 684-689.

54. Carinci F, Scapoli L, Girardi A, Cura F, Lauritano D, Nardi GM et al. Oral microflora and periodontal disease: new technology for diagnosis in dentistry. *Ann Stomatol* 2013; 4: 170-173.
55. Fonseca DC, Cortelli JR, Cortelli SC, Cota LO, Costa LCM, Castro MVM et al. Clinical and microbiologic evaluation of scaling and root planning per quadrant and one-stage full-mouth disinfection associated with Azithromycin or Chlorhexidine: a clinical randomized controlled trial. *J Periodontol* 2015; 86: 1340-1351.
56. Guarnelli ME, Farina R, Cucchi A, Trombelli L. Clinical and microbiological effects of mechanical instrumentation and local antimicrobials during periodontal supportive therapy in aggressive periodontitis patients: smoker versus non-smoker patients. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 998-1004.
57. Cortelli JR, Castro MVM, Balejo RDP, Alencar CO, Gargioni Filho AC, Cortelli SC et al. Clinical and microbiological evaluation of one-stage full-mouth disinfection: a short-term study. *Rev Odontol UNESP* 2013; 42: 298-303.
58. Moreira AN, Caniggia LF, Ferreira RC, Verónica C, Alonso C, Piovano S. Efeito do controle da placa supragengival sobre a microflora subgengival e tecidos periodontais. *Pesqui Odontol Bras* 2011; 15: 119-126.
59. Raslan SA, Alencar CO, Cortelli JR, Cortelli SC, Aquino DR. Presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em associação a *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* em pacientes periodontais. *Rev Odontol UNESP* 2011; 40: 304-309.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Taís Browne de Miranda

Taís Browne de Miranda

Taubaté, 26 de julho de 2017.