

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto  
Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia

**Monitoração dos níveis de HbA1c e mediadores inflamatórios  
durante o tratamento periodontal não cirúrgico em pacientes com  
*diabetes melittus* tipo 2.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Periodontia.

**Mestranda: Patrícia Araújo de Aquino  
O'Connell**

Ribeirão Preto

2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Patrícia Araújo de Aquino O'Connell**

**Monitoração dos níveis de HbA1c e mediadores inflamatórios  
durante o tratamento periodontal não cirúrgico em pacientes com  
*diabetes melittus* tipo 2.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Periodontia.

**Orientador: Prof. DDS, PhD. Mário Taba Júnior**

Ribeirão Preto

2007

## FICHA CATALOGRÁFICA

O'Connell, Patrícia Araújo de Aquino

**Monitoração dos níveis de HbA1c e mediadores inflamatórios durante o tratamento periodontal não cirúrgico em pacientes com *diabetes melittus* tipo 2.**

126 p. : il. ; 30cm

Tese de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Periodontia

Orientador: Júnior, Mário Taba.

1. Doença Periodontal. 2. Diabetes Mellitus. 3. Mediadores Inflamatórios. 4. Hemoglobina Glicada. 5. Antibioticoterapia.

**DEDICATÓRIA**

---

*Aos meus pais Nadir e José*

*Ao João Lucas*

*À Lorena*

*Simplesmente, por tudo....*

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

---

À Deus,

À minha irmã *Larissa*, meu irmão *Thomas*, por todo carinho e atenção. Aos meus sobrinhos *Marcelo, Victor e Yuri* pela alegria sempre transmitida.

À minha segunda família que ganhei de presente. *Regina e João José, Daniel, Nilvanda e Michelle* por todo amor, amizade, e companheirismo. Vocês são pessoas muito especiais!

Aos meus *colegas de mestrado* por compartilharem comigo todas as emoções vividas durante essa trajetória.

Ao meu orientador *Prof.Dr. Mário Taba Júnior*, pela sua competência, e dedicação à pesquisa, mas principalmente pelo apoio fornecido durante todo o trabalho.

**Muito Obrigada a todos!**



## SUMÁRIO

### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

JUSTIFICATIVA .....	10
RESUMO .....	22
INTRODUÇÃO .....	24
MATERIAIS E MÉTODOS .....	28
ANÁLISE DOS DADOS .....	35
RESULTADOS .....	37
DISCUSSÃO .....	41
CONCLUSÃO .....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
ARTIGO EM INGLÊS .....	62
ABSTRACT .....	64
INTRODUCTION .....	67
MATERIAL AND METHODS .....	71
RESULTS .....	78
DISCUSSION .....	82
REFERENCES .....	88
ANNEX.....	94
TABLES LEGENDS .....	95
ILUSTRATIONS .....	104

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – graus Centígrados

**DM.** – *Diabetes Mellitus*

**DP** – doença periodontal

**FasL** – *Faz ligand*- Ligando Fas

**RAP+Doxi** – tratamento periodontal com antibiótico - doxiciclina

**RAP** – tratamento periodontal somente

**G-CSF** – fator de estimulação de colônias granulocíticas

**GM-CSF** - fator estimulador de colônia granulócito macrófago

**HbA1c** – hemoglobina glicada

***Human Fas Ligand*** – Ligando Fas humano

**INF $\gamma$**  –interferon gama

**IP** – estado de higiene oral

**IP-10** – proteína 10 interferon induzida

**IL-12(p70)** – interleucina 12

**IL1- $\beta$**  – interleucina 1 beta

**IL-6** – interleucina 6

**IL-8** – interleucina 8

**LPS** – lipopolissacarídeos

**mg/dl** – miligrama por decilitros

**mm** – milímetro

**NCI** – nível de inserção clínico relativo

**PGE<sub>2</sub>** – prostaglandina E<sub>2</sub>

**PAO** – periodontista – Patrícia Aquino O

**PB** – profundidade de sondagem

**RAP** – terapia periodontal não cirúrgica em estágio único associado a placebo

**RAP+Doxi** – terapia periodontal não cirúrgica em estágio único associada a doxiciclina<sup>®</sup>100mg

**SS** – sangramento à sondagem

**SUP** – supuração

**TNF- $\alpha$**  – fator de necrose tumoral alfa

**JUSTIFICATIVA**

---

Tradicionais paradigmas têm afirmado que a periodontite é uma doença oral e que a resposta tecidual destrutiva permanece localizada dentro do periodonto, limitando os efeitos da doença aos tecidos de suporte dos dentes. Entretanto, a literatura atual relata que a periodontite pode produzir alterações a nível sistêmico. Estudos prévios demonstraram uma significativa associação entre doença periodontal e derrame<sup>1</sup>, fracasso de próteses<sup>2</sup>, doença arterial coronariana<sup>3</sup>, partos prematuros<sup>4</sup>, pneumonia<sup>5</sup>, artrite reumatóide<sup>6</sup> e *diabetes mellitus*.<sup>7</sup>

O conhecimento de que a infecção oral tem o potencial para causar doenças sistêmicas não é um novo conceito. A teoria da infecção focal (distribuição de microrganismos patogênicos assim como seus fatores de virulência e metabólicos do foco de infecção local a sítios distantes do corpo) foi primeira sugerida por Hipócrates e tornou-se um conceito popular em termos de cavidade oral em 1920s.<sup>8</sup> Resistência a esse conceito começou a ser construída em 1930s através de evidências científicas que falharam ao tentar confirmar a teoria. Entretanto muitos profissionais de saúde permaneceram fiéis aos princípios gerais da hipótese da infecção focal.<sup>7</sup>

Os focos de doença periodontal apresentam características de uma infecção anaeróbia gram-negativa, que têm a sua etiologia relacionada ao biofilme bacteriano aderido à superfície dental, e que leva a inflamação gengival, destruição dos tecidos periodontais, perda óssea alveolar, e em casos severos a esfoliação de dentes.<sup>9</sup> O biofilme periodontal contém uma enorme quantidade e diversidade de microrganismos, uma amostra obtida de uma bolsa por meio de uma única raspagem com cureta pode obter uma quantidade acima de  $10^8$  bactérias.<sup>10</sup>

Além disso, a estrutura como o biofilme é organizado dificulta a sua eliminação, e uma vez destruídos eles tendem a se formar rapidamente.<sup>10</sup> A característica chave do biofilme microbiano é a formação de um ambiente favorável à sobrevivência de toda uma população bacteriana ao invés de uma única espécie.<sup>11</sup> Toda essa estrutura estabelecida no meio

periodontal facilita a disseminação de microrganismos bem como de substâncias produzidas localmente através do epitélio da bolsa, que é uma frágil barreira entre o biofilme e o tecido conjuntivo. As camadas finas do epitélio são freqüentemente ulceradas, devido à inflamação, e facilmente penetráveis, permitindo o acesso bacteriano ao tecido conjuntivo e vasos sanguíneos.<sup>12</sup>

Em pacientes com periodontite moderada a severa, a área total do epitélio da bolsa em contato direto com o biofilme subgingival é surpreendentemente larga. O tamanho pode se comparar à área da palma da mão de um humano ou muito maior do que isso em casos de doença avançada.<sup>2</sup> Se considerarmos que o paciente desenvolve a doença ao redor de todos os dentes existentes com uma média de profundidade de bolsa de 5 a 6mm, a área total do epitélio da bolsa em contato com colônias bacterianas inseridas na superfície dental (biofilme) seria de quase 72cm<sup>2</sup>.

Dessa forma, os tecidos periodontais do hospedeiro que se encontram em íntima associação com uma crescente diversidade e quantidade de produtos microbianos no sulco gengival causa uma resposta imune e inflamatória gerada pelo hospedeiro em resposta às bactérias ou a seus produtos.<sup>13</sup> De fato, estudos recentes têm demonstrado que pacientes com doença periodontal (DP) apresentam uma marcante resposta sistêmica, a qual é controlada após o tratamento periodontal.<sup>14</sup> Tal resposta estaria envolvida na alteração da saúde sistêmica apresentada pelos pacientes com DP.

Uma das alterações sistêmicas devido à doença periodontal que vem sendo avaliada é a *Diabetes Mellitus* (DM). Enquanto existe evidências concretas considerando a diabetes como fator de risco para uma pobre saúde periodontal, existe também a possibilidade contrária, ou seja, da infecção periodontal prejudicando o controle glicêmico dos diabéticos.<sup>15</sup> As duas doenças parecem ser bidirecionais, na medida em que a presença de uma condição

tende a promover a outra, e que meticoloso controle de qualquer uma pode ajudar o tratamento da outra.<sup>16</sup>

Para avaliar doença periodontal e nível de estado metabólico, uma investigação longitudinal comparou três subgrupos (controlados, moderadamente controlados e pobremente controlados) de diabéticos durante um ano, e verificou diferenças significativas para profundidade de bolsa e inserção periodontal para o grupo de diabéticos descompensados, quando comparados a um grupo de não diabéticos.<sup>17</sup> Estes dados sugeriram que o estado metabólico dos pacientes diabéticos modifica a evolução da doença periodontal<sup>17</sup> Além disso, diabéticos descompensados têm uma recorrência mais rápida de doença periodontal e uma resposta menos favorável em longo prazo ao tratamento.<sup>18</sup>

As evidências indiretas dos efeitos da doença periodontal no metabolismo de diabéticos, foram obtidas de investigações da relação entre resistência a insulina e doenças inflamatórias do tecido conjuntivo<sup>19</sup>, outras doenças clínicas<sup>19</sup>, e infecção aguda.<sup>20</sup> A alta vascularidade do periodonto inflamado faz com que esse tecido sirva como uma fonte de mediadores inflamatórios, e por sua vez todos os mediadores importantes na inflamação periodontal têm mostrado efeitos importantes no metabolismo da glicose e lipídeos.<sup>21,4</sup>

Comprovação adicional é relatada em dois estudos observacionais. Uma avaliação epidemiológica longitudinal de índios da tribo Pima no Arizona, encontrou que indivíduos com diabetes do tipo 2 com bom a moderado controle e com periodontite severa no início do estudo, tiveram aproximadamente seis vezes mais uma piora no controle glicêmico quando comparado ao grupo sem periodontite severa, em aproximadamente dois anos de seguimento.<sup>22</sup> Outra pesquisa observacional, com 25 adultos com diabetes do tipo 2, também relatou uma associação entre doença periodontal severa e controle metabólico prejudicado.<sup>23</sup>

A presença de infecção periodontal severa pode também aumentar o risco para complicações diabéticas micro e macrovasculares. Um estudo de caso-controle examinou complicações em 39 pacientes diabéticos com periodontite severa comparado com 39 diabéticos com gengivite e periodontite moderada.<sup>24</sup> De um a onze anos de seguimento, os indivíduos diabéticos que apresentavam doença periodontal severa no início do estudo, teve maior prevalência de proteinúria e um maior número de complicações cardiovasculares incluindo ataque isquêmico transitório, angina, infarto do miocárdio, quando comparados aos pacientes com mínima doença periodontal.<sup>24</sup>

Quando se avalia o efeito sistêmico do tratamento periodontal no controle glicêmico, existe uma grande variação na literatura, em relação ao tipo de terapia aplicada.<sup>15</sup>

Um dos primeiros estudos mostrou que a terapia periodontal não cirúrgica levou uma redução nos níveis de hemoglobina glicada em cinco de nove pacientes diabéticos, com elevado grau de severidade de *diabetes mellitus* e inflamação gengival.<sup>25</sup> O benefício da associação de antimicrobianos à terapia periodontal foi revelado por autores que observaram uma redução da necessidade de insulina em sete de nove pacientes diabéticos tratados para periodontite associado à administração de penicilina<sup>®</sup>.<sup>26</sup>

No entanto, recente estudo utilizando dois grupos de pacientes, o primeiro com terapia antimicrobiana (amoxicilina<sup>®</sup>/ácido clavulânico<sup>®</sup>) e o segundo grupo sem a medicação, o primeiro apresentou uma resposta menos favorável no controle metabólico, embora o tratamento não cirúrgico tenha resultado em menor nível glicêmico e diminuição da infecção periodontal nos dois grupos.<sup>27</sup>

Dentre os antimicrobianos investigados, aqueles que têm mostrado efeito benéfico no controle glicêmico quando associado ao tratamento da infecção periodontal foram os



derivados de tetraciclina<sup>®</sup>.<sup>28,29,30</sup> Esse efeito positivo pode ser mais pronunciado em pacientes diabéticos não controlados com periodontite severa.<sup>31</sup>

A utilização de doxiciclina<sup>®</sup> 100mg, que é um derivado de tetraciclina<sup>®</sup>, como adjunta à terapia periodontal, foi associada com a redução no nível de hemoglobina glicada após três meses de tratamento.<sup>29</sup> Além disso, essa terapia promoveu uma significativa redução de *P. gingivalis* subgingival que é considerado um dos principais patógenos periodontais que produzem endotoxinas na forma de lipopolissacarídeos (LPS), esses por sua vez geram uma resposta imune destrutiva no hospedeiro.<sup>9,32</sup> Outro estudo utilizou também um derivado de tetraciclina<sup>®</sup>, a minociclina<sup>®</sup> local, os autores observaram que a terapia mecânica associada a administração de minociclina<sup>®</sup> local em todas as bolsas periodontais promoveu a redução na concentração de TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa) e hemoglobina glicada na circulação, melhorando o controle metabólico após um mês de terapia.<sup>30</sup>

Levando em consideração os estudos que têm demonstrado que a DP leva a predisposição, agravamento e até mesmo a ocorrência de diversas patologias, o mecanismo pelo qual a doença periodontal afeta o controle metabólico da *diabetes mellitus* (DM) ainda não foi bem compreendido.<sup>33</sup> Estudos *in vitro* através da infusão de lipopolissacarídeos e/ou produção de TNF- $\alpha$  têm indicado induzir resistência severa à insulina em ratos diabéticos.<sup>30</sup> Em adição TNF- $\alpha$  tem sido identificado como um potente antagonista da superfície celular do substrato do receptor de insulina, inibindo a pós-fosforilação da superfície celular associado ao receptor, e bloqueando a translocação das proteínas transportadoras de glicose do citoplasma para membrana dominante.<sup>34</sup> Dessa maneira o TNF- $\alpha$  bloqueando o receptor de insulina, contribui para o estado de resistência a esse hormônio, pela inibição do transporte de glicose intracelular e ação da insulina.<sup>35</sup>

Alguns investigadores sugerem que as citocinas pró-inflamatórias assim como IL1- $\beta$

(interleucina 1 beta), TNF- $\alpha$ , IL-6 (interleucina 6) são as responsáveis por causar uma resposta sistêmica à infecção periodontal, causando resistência insulínica e subsequente piora no controle glicêmico em pacientes com periodontite.<sup>12</sup> É interessante notar que existe um grande número de aspectos comuns nas respostas celulares e de mediadores entre diabetes e periodontite. Dessa maneira, a infecção periodontal magnificaria a já elevada resposta de citocinas associadas ao estado diabético, contribuindo assim, com a carga total de inflamação sistêmica.<sup>36</sup>

Entretanto apesar de inúmeros estudos indicarem a associação entre DP e DM, ainda existe uma literatura escassa sobre o mecanismo envolvido no processo de agravamento do controle metabólico pela inflamação periodontal. Assim, considerando todas as evidências da interação entre *Diabetes Mellitus* e doença periodontal, o propósito desse estudo foi avaliar as alterações da glicemia através dos níveis de hemoglobina glicada e glicemia em jejum, e dos níveis de citocinas inflamatórias, em pacientes diabéticos tipo 2, após terapia periodontal não cirúrgica, associada ou não ao uso de doxiciclina<sup>®</sup> 100mg.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *BMJ*. 1993 Mar 13;306:688-91.
2. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):108-20.
3. Geismar K, Stoltze K, Sigurd B, Gyntelberg F, Holmstrup P. Periodontal disease and coronary heart disease. *J Periodontol*. 2006 Sep;77(9):1547-54.
4. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, McKaig R, Beck J. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1103-13.
5. Loesche WJ, Lopatin DE. Interactions between periodontal disease, medical diseases and immunity in the older individual. *Periodontol 2000*. 1998 Feb;16:80-105.
6. Ribeiro J, Leão A, Novaes AB. Periodontal infection as a possible severity factor for rheumatoid arthritis. *J Clin Periodontol*. 2005;Apr;32(4):412-416.
7. Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. *J Periodontol*. 2000 Aug;71(8):1375-84.
8. Slots J. Casual or causal relationship between periodontal infection and non-oral disease? *J Dent Res*. 1998 Oct;77(10):1764-5.

9. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*. 1992 Apr;63(4 Suppl):322-31.
10. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):108-20.
11. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997 Jun;14:12-32.
12. Grossi SG. Treatment of periodontal disease and control of diabetes: an assessment of the evidence and need for future research. *Ann Periodontol*. 2001 Dec;6(1):138-45.
13. Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2004;35:21-41.
14. D'Aiuto F, Ready D, Tonetti MS. Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodontal Res*. 2004 Aug;39(4):236-41.
15. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol*. 2001 Dec;6(1):99-112.
16. Scannapieco FA. Periodontal disease as a potential risk factor for systemic diseases. *J Periodontol*. 1998;69:841-850.
17. Novaes Junior AB, Gutierrez FG, Novaes AB. Periodontal disease progression in type II non-insulin-dependent diabetes mellitus patients (NIDDM). Part I--Probing pocket depth and clinical attachment. *Braz Dent J*. 1996;7(2):65-73.

18. Tervonen T, Karjalainen K. Periodontal disease related to diabetic status. A pilot study of the response to periodontal therapy in type 1 diabetes. *J Clin Periodontol*. 1997 Jul;24(7):505-10.
19. Svenson KL, Lundqvist G, Wide L, Hallgren R. Impaired glucose handling in active rheumatoid arthritis: relationship to the secretion of insulin and counter-regulatory hormones. *Metabolism*. 1987 Oct;36(10):940-3.
20. Drobny EC, Abramson EC, Baumann G. Insulin receptors in acute infection: a study of factors conferring insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984 Apr;58(4):710-6.
21. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):51-61.
22. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1085-93.
23. Collin HL, Uusitupa M, Niskanen L, Kontturi-Narhi V, Markkanen H, Koivisto AM, Meurman JH. Periodontal findings in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. 1998 Sep;69(9):962-6.
24. Thorstensson H, Kuylenstierna J, Hugoson A. Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol*. 1996 Mar;23(3 Pt 1):194-202.
25. Miller LS, Manwell MA, Newbold D, Reding ME, Rasheed A, Blodgett J, Kornman KS. The relationship between reduction in periodontal inflammation and diabetes control: a report of 9 cases. *J Periodontol*. 1992 Oct;63(10):843-8.

26. Williams RC Jr, Mahan CJ. Periodontal disease and diabetes in young adults. *JAMA*. 1960 Feb 20;172:776-8.
27. Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol*. 2003 Sep;74(9):1361-7. Erratum in: *J Periodontol*. 2004 May;75(5):780.
28. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1094-102.
29. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, Genco RJ. Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *J Periodontol*. 1997 Aug;68(8):713-9.
30. Iwamoto Y, Nishimura F, Nakagawa M, Sugimoto H, Shikata K, Makino H, Fukuda T, Tsuji T, Iwamoto M, Murayama Y. The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2001 Jun;72(6):774-8.
31. Mealey B. Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol*. 1999 Aug;70(8):935-49. Corrected and republished in: *J Periodontol*. 2000 Apr;71(4):664-78.
32. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):821-78.
33. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Ann Periodontol*. 2001 Dec;6(1):125-37.

34. Kanety H, Feinstein R, Papa MZ, Hemi R, Karasik A. Tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS. *J Biol Chem.* 1995;270:23780-23784.
  
35. Paz K, Hemi R, LeRoith D, et al. A molecular basis for insulin resistance. Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS -1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem.* 1997;272:29911-29918.
  
36. Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes.* 1992 Oct;41 Suppl 2:97-101.

**RESUMO**

---



A periodontite, além de ser uma complicação da *Diabetes Mellitus*, tem influência no controle glicêmico de pacientes portadores dessa síndrome. O mecanismo biológico dessa interação envolve a síntese e secreção de citocinas, formando um ciclo de resposta catabólica e de destruição periodontal, o qual contribui para as formas mais severas da doença e maior dificuldade do controle glicêmico. Partindo da premissa que o tratamento periodontal reduz os níveis circulantes e teciduais dos mediadores inflamatórios, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento periodontal não cirúrgico nos níveis séricos de hemoglobina glicada (HbA1c), na glicemia em jejum e nos níveis de citocinas três meses pós-terapia. Neste estudo duplo-cego placebo controlado, trinta indivíduos diabéticos tipo 2 (HbA1c inicial >8) que apresentavam doença periodontal foram separados aleatoriamente em dois grupos, e receberam terapia periodontal básica. Um dos grupos utilizou como adjuvante a antibiótico-terapia sistêmica, doxiciclina<sup>®</sup> 100mg por via oral durante 14 dias, após dose inicial de 200mg, enquanto outro grupo recebeu placebo com mesmo protocolo de administração doxiciclina<sup>®</sup>. Os exames clínicos periodontais, pré e pós-terapia foram correlacionados com os níveis de HbA1c e os níveis séricos dos mediadores inflamatórios. A redução média de profundidade de sondagem foi de 0.8mm para raspagem e aplainamento radicular associada a placebo (RAP) (p=0,00), e 1.1mm para raspagem e aplainamento radicular associada a doxiciclina (RAP+Doxi) (p=0,00), acompanhada da redução dos níveis de Hb1Ac em 0,9%(p=0.0541) e 1,5% (p=0.0047) respectivamente. Verificou-se também uma redução significativa ( $P<0,05$ ) de IL-6, IP-10, *Human Fas Ligand*, G-CSF, *Rantes* e IL-12p70 após três meses de terapia considerando toda a amostra (n=30) do estudo.

Foi evidenciado um efeito benéfico da terapia periodontal sobre o controle glicêmico e o potencial da terapia antibiótica como adjuvante ao tratamento periodontal convencional, além disso, a alteração dos mediadores inflamatórios pode estar ligada à melhora clínica periodontal e redução da hemoglobina glicada.

**Palavras chaves:** terapia periodontal, diabetes mellitus, mediadores inflamatórios, hemoglobina glicada, antibioticoterapia

## **INTRODUÇÃO**

---

*Diabetes mellitus* (DM) e periodontite são doenças crônicas comuns em adultos e ambas são consideradas de alta prevalência na população mundial. A diabetes é uma enfermidade que está presente em aproximadamente 21 milhões de crianças e adultos nos Estados Unidos (7% da população).<sup>1</sup> Além disso, a incidência dessa desordem metabólica também aumenta anualmente, está previsto que no ano de 2025, 300 milhões de pessoas terão diabetes.<sup>2</sup> Em relação a periodontite, mais de um terço da população com idade acima de trinta anos são acometidas pela doença, por meio de uma avaliação conservadora, em média 35,7 milhões de pessoas nos Estados Unidos apresentam doença periodontal.<sup>3,4</sup>

*Diabetes Mellitus* é um grupo desordem metabólica caracterizada pela hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos.<sup>5,6</sup> Baseado nessas condições, a doença pode ser dividida em dois principais tipos: Tipo 1 (formalmente: *diabetes mellitus* insulino dependente) e Tipo 2 (formalmente: *diabetes mellitus* não-insulino dependente).<sup>6</sup> DM tipo 1 é causada pela destruição de células  $\beta$  pancreáticas – conhecidas como produtoras de insulina. DM tipo 2 resulta de defeitos na molécula de insulina ou da alteração de seus receptores celulares provocando uma função prejudicada da ação desse hormônio (resistência insulínica) ao invés de deficiência ou falta de produção.<sup>6,7</sup>

A condição de hiperglicemia crônica da diabetes está associada ao longo do tempo a dano, disfunção, e fracasso de vários órgãos, especialmente os olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos.<sup>8</sup> A periodontite faz parte de uma dessas complicações. A literatura relata que a doença periodontal é mais prevalente e mais severa em pacientes com diabetes do que em não diabéticos<sup>9,10</sup>. De fato, os sinais e sintomas da doença periodontal são reconhecidos como a “sexta complicação da diabetes”<sup>11</sup> Os mecanismos envolvidos nesse processo estão principalmente relacionados à diminuição da capacidade de síntese de colágeno e

glicosaminoglicana pelos fibroblastos gengivais, além do aumento da atividade colagenolítica do fluido gengival<sup>9,12-14</sup>.

Existem vários aspectos comuns na resposta inflamatória entre diabetes e periodontite<sup>13</sup>. A relação de ambas as doenças representa um exemplo bem reconhecido de doença sistêmica predispondo a infecção oral e, uma vez estabelecida, a infecção oral exacerba a condição sistêmica<sup>13</sup>. Dessa maneira, a doença crônica gram-negativa de origem periodontal pode ser considerada um foco potencial de infecção, que agrava o controle metabólico de pacientes diabéticos<sup>10,15</sup>.

Dentro desse contexto, os fatores de virulência bacteriana subgengival apresentam no periodonto um ganho de maior significância. Os monócitos e macrófagos respondem aos microrganismos do biofilme dental, lipopolissacarídeos, e outras frações solúveis e específicas através da secreção de um grande número de citocinas inflamatórias, especialmente TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub>, IL-1 $\beta$ , e IL-6<sup>13,16</sup>. A elevação na expressão de citocinas pelas células dentro do tecido conjuntivo gengival em lesões crônicas periodontais<sup>17</sup>, teoricamente poderão contribuir com o excesso no número dessas moléculas na circulação, induzindo ou perpetuando os efeitos sistêmicos. Dessa forma, um elevado nível sérico desses importantes mediadores, que podem ter sido originados da infecção periodontal, têm mostrado efeitos deletérios no metabolismo da glicose e lipídios.

Estudos têm demonstrado o TNF- $\alpha$  como um antagonista de insulina interferindo com o metabolismo de glicose e lipídeos<sup>13,18</sup>. Outros mediadores como a IL-6, e IL-1 também participam desse mecanismo de antagonismo da insulina e induzem a liberação de reagentes de fase aguda<sup>13,18-20</sup>. Quimiocinas assim como a IL-8, Rantes, proteína 10 interferon induzida (IP-10), e eotaxin são mediadores imunes cruciais em muitas condições fisiológicas e patofisiológicas. Estudos sugerem que as quimiocinas podem estar envolvidas na infiltração

de macrófagos dentro do tecido adiposo em indivíduos obesos executando um importante papel no desenvolvimento de desordens relacionadas à obesidade (como diabetes tipo 2)<sup>21</sup>.

A fim de comprovar essa teoria, estudos de intervenção têm sido realizados para avaliar o potencial do efeito da terapia periodontal no controle glicêmico em diabéticos, sem força conclusiva para estabelecer a terapia periodontal como importante na melhora do controle glicêmico em pacientes portadores de diabetes tipo 1 ou tipo 2<sup>5,22-24</sup>. Por outro lado, alguns estudos em pacientes diabéticos com periodontite severa têm mostrado uma melhora no controle glicêmico após raspagem e aplainamento radicular<sup>25-28</sup>. Além disso, o tratamento da doença periodontal incorporando doxiciclina<sup>®</sup> sistêmica ou minociclina local resultou numa diminuição significativa da infecção e inflamação periodontal associado a uma redução nos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c)<sup>25,29</sup>.

Considerando todas as evidências acumuladas e a necessidade de mais investigações da interrelação entre *Diabetes Mellitus* e doença periodontal, o objetivo desse estudo foi avaliar as mudanças dos níveis séricos de hemoglobina glicada e biomarcadores inflamatórios após terapia periodontal não cirúrgica.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

---

## POPULAÇÃO

Esse estudo clínico foi conduzido em conjunto com o Departamento de Doenças Metabólicas e Endocrinológicas – Escola de Medicina e o Departamento de Periodontia – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Aproximadamente 2.400 prontuários médicos foram revisados entre 2004 e 2005 para selecionar os pacientes que participariam do estudo. Aqueles que preencheram os critérios clínicos de entrada foram examinados por um periodontista (PAO) e, de acordo com a condição periodontal encontrada, os pacientes foram convidados ou não a participar da pesquisa.

Os critérios de inclusão foram:

1. Pacientes diabéticos tipo 2 e com os valores da hemoglobina glicada (**HbA1c**) **>8%**; ou seja, pacientes considerados não controlados ou pobremente controlados;
2. Duração da diabetes maior ou igual a cinco anos (considerando o diagnóstico laboratorial);
3. No mínimo um sítio com profundidade de bolsa  $\geq 5\text{mm}$  e dois dentes com perda de inserção  $\geq 6\text{mm}$

Os critérios de exclusão foram:

1. Indivíduos que faziam uso regular de drogas como antiinflamatórios, antibióticos, imunossupressores, ou anticoagulantes;
2. História positiva de tabagismo no prazo de cinco anos;

3. Gravidez ou amamentação;
4. Complicações graves advindas da diabetes ou outra enfermidade.

O presente trabalho foi revisado e aprovado pelo **Comitê de Ética em Pesquisa Humana da USP** e os pacientes receberam a informação completa sobre os objetivos, riscos, benefícios do estudo e o efeito da terapia. A adesão dos mesmos foi obtida após assinarem o **Termo de consentimento**. Os pacientes habilitados à pesquisa foram remarcados para exames laboratoriais, radiográficos e exames clínicos periodontais.

Em relação à seleção inicial, 35 pacientes apresentaram todos os critérios de inclusão e também concordaram em participar do estudo.

## **COLETA DE DADOS**

As medidas clínicas periodontais foram realizadas por um único examinador (PAO) e registradas em seis sítios por dente no início e três meses após o tratamento periodontal, em ambos os grupos. Os parâmetros verificados foram: profundidade de sondagem (PB), nível de inserção clínico relativo (NCI), sangramento à sondagem (SS), supuração (SUP) e presença ou ausência de biofilme em quatro sítios por dente.

**Profundidade de sondagem (PB):** a profundidade de sondagem correspondeu na medida da margem gengival a base da bolsa periodontal, em seis sítios por dente (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, lingual e disto-lingual) usando a sonda



periodontal computadorizada do tipo pocket probe (Florida Probe)<sup>u</sup>.

**Nível de inserção clínico relativo (NIC):** O nível de inserção relativo foi mensurado a partir da coroa do dente ao fundo da bolsa, a cada seis sítios por dente, com sonda eletrônica computadorizada do tipo disk probe (Florida Probe)<sup>u</sup>.

**Inflamação periodontal (sangramento à sondagem e supuração):** A presença do sangramento à sondagem e supuração consistiu na porcentagem de sítios com sangramento e ou supuração, avaliado pela leve sondagem até o fundo da bolsa periodontal. A presença de sangramento e supuração à sondagem foi considerada positiva quando ocorreu em até 20s após a inserção da sonda computadorizada para a medida da profundidade de sondagem.

**Estado de higiene oral (IP):** Depósitos de biofilme foram corados com solução evidenciadora. A porcentagem das superfícies dos dentes com placa foram registrados em quatro sítios por dente, *O'Leary index*<sup>30</sup>. Concomitantemente a esse procedimento os pacientes receberam instruções de higiene oral, incluindo a técnica de escovação, uso de fio dental e escova interdental.

**Avaliação radiográfica:** O exame radiográfico foi feito através de uma série periapical completa de cada paciente.

---

<sup>u</sup> Pocket probe e Disk probe Florida Probe Corporation, Gainesville, FL

## AMOSTRAS DE SANGUE

Um volume de 15ml de amostra de sangue foi adquirido de cada paciente pela técnica da venipunção. três tubos foram usados para analisar respectivamente, o nível de hemoglobina glicada<sup>‡</sup>; glicemia em jejum<sup>†</sup>; e moléculas inflamatórias no soro. As amostras foram obtidas de cada paciente antes e após a terapia periodontal. O soro foi coletado e após a centrifugação, aliqotado, e congelado a -4°C.

## EXAME MÉDICO E IMUNOLÓGICO

Para a avaliação metabólica, amostras de sangue foram obtidas de cada paciente e analisadas para glicemia em jejum<sup>†</sup>, e hemoglobina glicada (HbA1c)<sup>‡</sup>. A glicemia em jejum<sup>†</sup> foi expressa em mg/dl e obtida através do método da glicose oxidase e a HbA1c em porcentagem, e medida pela cromatografia líquida de alta eficiência. Os valores metabólicos foram realizados no início e três meses após o tratamento periodontal nos dois grupos.

Antes e após o tratamento, uma pequena amostra de soro foi coletada de cada paciente e estocada a -4°C, para ser analisada posteriormente. As amostras foram usadas para identificar simultaneamente os tipos e medir os níveis de múltiplas moléculas diferentes dentro de uma pequena amostra de fluido biológico. Para essa análise imunológica, foi

---

<sup>‡</sup> Labtest Sistemas para Diagnóstico, SP, Brasil

<sup>†</sup> Glicose GOD-ANA enzimática, Labtest, SP, Brasil

utilizado a citometria de fluxo BD<sup>TM</sup> Cytometric Bead Array (CBA)<sup>§</sup> Multiplex Assays<sup>®</sup>.

Esta técnica foi realizada conforme protocolo sugerido pelo fabricante (BD<sup>TM</sup> Cytometric Bead Array)<sup>§</sup>. Brevemente, cada kit BD CBA apresenta uma série de partículas diferentes que são marcadas com um contraste fluorescente cujo comprimento de onda é lido em  $\sim 650\text{nm}^3$ . Cada diferente grupo de beads é rotulado com um discreto nível de contraste fluorescente, assim os grupos são identificados e diferenciados através da média de intensidade fluorescente sobre a análise do citômetro de fluxo.

Em adição, *beads* dentro de cada grupo estão covalentemente ligados com anticorpos, que podem especificamente capturar um tipo particular de molécula presente dentro do fluido biológico a ser analisado (soro). Esses anticorpos de alta-afinidade funcionam especificamente para capturar e localizar as proteínas de interesse que podem estar presentes nos soros dos pacientes. Essa proteína capturada é então especificamente detectada por meio da adição de um anticorpo fluorescente. Com a análise da citometria de fluxo multicolor, os níveis de proteínas (proporcional ao limite da detecção do anticorpo da intensidade fluorescente de sinais) capturadas por diferentes grupos de *beads* (diferenciados pelas suas intensidades de sinais) são medidos. Os dados são analisados através do uso do BD (CBA)<sup>§</sup> *Software*<sup>®</sup> para calcular as concentrações de múltiplas proteínas que podem estar co-expressadas dentro das amostras de fluidos biológicos.

---

<sup>§</sup> BD Cytometric Bead Array (CBA), BD Biosciences

## TRATAMENTO PERIODONTAL

Todos os indivíduos foram submetidos a exame e tratamento periodontal por um único periodontista calibrado (PAO). Esse foi um estudo duplo cego, randomizado e placebo controlado. Os pacientes foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos: terapia periodontal não cirúrgica em estágio único associado a placebo (RAP, quinze pacientes) e terapia periodontal não cirúrgica em estágio único associada a doxiciclina<sup>®</sup> 100mg (RAP+Doxi, quinze pacientes). O grupo RAP, recebeu placebo diariamente por duas semanas depois de uma dose inicial de 200mg. A primeira cápsula foi ingerida um dia antes do início do tratamento e a segunda cápsula duas horas antes do início do tratamento. O grupo rap+Doxi utilizou doxiciclina<sup>®</sup>/100mg sistêmica seguindo o mesmo protocolo do grupo placebo.

Todos os pacientes receberam raspagem e alisamento radicular em estágio único de acordo com a terapia de desinfecção em estágio único descrita por Quirynen *et al.*,1998<sup>38</sup>. As sessões foram realizadas sob anestesia local, em duas a quatro sessões, dentro de 24 a 36 horas por um mesmo profissional. Para o tratamento, o periodontista utilizou instrumentos manuais (curetas Gracey<sup>®</sup>, HuFriedy Instruments, Chicago,IL, USA) e instrumentos ultra sônicos. Para um controle adequado do biofilme, os indivíduos receberam instruções de higiene oral e profilaxia profissional, na primeira sessão e de quinze em quinze dias durante todo o período de tratamento até a reavaliação.

**ANÁLISE DOS DADOS**

---

Os dados profundidade de sondagem, nível clínico de inserção relativo, sangramento à sondagem, perdas dentárias, hemoglobina glicada, glicemia em jejum e biomarcadores no soro foram calculados para cada indivíduo e grupo e foram comparados entre os dois grupos usando *test t de student* ou *Mann-Whitney U test*. Para comparar os valores entre o início e após três meses de tratamento foi usado *test t de student* pareado ou teste de *Wilcoxon Rank Sum*. Os dados foram testados para normalidade antes de aplicar os testes adequados, paramétricos ou não paramétricos.

Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando valor de  $p$  foi menor que 0,05. Correção de Bonferroni foi aplicada na análise dos níveis de biomarcadores no soro e o nível alfa ajustado para baixo.

**RESULTADOS**

---

De 35 pacientes selecionados no início, cinco foram excluídos do estudo. Dois não acompanharam a fase de tratamento, um paciente morreu, e dois iniciaram uso de uma medicação anti-coagulante. A amostra final compreendeu em trinta pacientes diabéticos, a média do valor da HbA1c foi 11.2%, portanto não controlados.

De trinta pacientes que participaram do estudo, dezesseis (53.3%) foram mulheres e 14 (46.7%) homens, com uma média de idade de 52,9 anos e 21.1 dentes remanescentes. De acordo com a distribuição dos grupos, RAP consistiu em nove (60%) mulheres e seis (40%) homens e com uma média de idade de  $53.5 \pm 13.6$  anos. RAP+Doxi apresentou sete (46.7%) mulheres e oito (53.3%) homens com uma média de idade de  $52.3 \pm 6.3$  anos (**Tabela 1**). No início, ambos os grupos tiveram médias de valores similares para idade, gênero, biofilme e sangramento à sondagem assim como severidade de doença periodontal definida como a média de profundidade de sondagem e média do nível clínico de inserção relativo. Ambos os grupos também mostraram médias iniciais similares dos parâmetros metabólicos ( $P>0.05$ ) (**Tabela 2**).

## PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS

O protocolo de tratamento periodontal RAP ou RAP+Doxi aplicado nesse estudo promoveu uma melhora estatisticamente significativa de quase todas as variáveis analisadas após três meses de tratamento. Os resultados mostraram, considerando todos os pacientes (N=30), uma média na redução de 0,9mm para a PB, e uma média de ganho de inserção clínico de 0.7mm, o IP reduziu em 23% e SS reduziu 38% (**Tabela 5**).



As reduções da PB e NIC para RAP e RAP+Doxi foram 0.8mm e 1.1mm; e 0.5mm e 0.9mm respectivamente com nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos após três meses (**Fig. 3**).

No início os valores para sangramento à sondagem (SS) foram 49.1% e 51.3% para os grupos RAP e RAP+Doxi. A alta prevalência de sangramento à sondagem pode ser interpretada como um indicador de inflamação periodontal generalizada. Após três meses, as reduções para RAP e RAP+Doxi foram 34.9% e 42.4% respectivamente. As alterações não foram estatisticamente significantes entre os grupos (**Tabela 4**).

O estado de higiene oral foram avaliados no início e duas vezes ao mês durante três meses. Ambos os grupos mostraram uma significativa redução no índice de placa. RAP mostrou uma redução de 22.2% e RAP+Doxi de 23,8%, com nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (**Fig. 5**).

## PARÂMETROS METABÓLICOS

As mudanças após 3 meses considerando todos os pacientes (N=30), mostraram uma redução significativa de 10.7% na média de HbA1c. Para a glicemia em jejum houve uma leve diminuição, não estatisticamente significativa de 228.3mg/dl para 217.0mg/dl (**Tabela 8**).

**Tabela 9** evidencia os dados metabólicos de cada tratamento. O alcance normal da HbA1c em indivíduos sem diabetes é de 4,5 – 6,0%. Em nosso estudo, a média aferida dos valores de hemoglobina glicada foram 10.7% para RAP e 11.8% para RAP+Doxi. Ambos os

grupos mostraram um padrão diabético não controlado.

As diferenças nos níveis de HbA1c, após três meses, para cada grupo foram 0.9% para RAP e 1.5% para RAP+Doxi. Essa redução equivale a aproximadamente 7% dos níveis iniciais de HbA1c para o grupo RAP e aproximadamente 13% dos níveis iniciais de HbA1c para RAP+Doxi (**Fig. 7**). Não existiu nenhuma diferença detectável entre os grupos.

As diferenças nos níveis de glicemia em jejum foram 21.7 mg/dl para RAP e 0.9 mg/dl para RAP+Doxi. Existiu uma tendência a uma diminuição para RAP, no entanto essa alteração não foi estatisticamente significativa, para o grupo RAP+Doxi os níveis de glicemia em jejum permaneceram inalterados (**Fig. 9**).

## PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS

O protocolo de tratamento periodontal RAP ou RAP+Doxi aplicado nesse estudo mostrou uma melhora nas concentrações do soro em dezesseis de 24 citocinas, analisadas após três meses de terapia (Tabela 10). As reduções de IL-6, IP-10, *Human Fas Ligand*, G-CSF, *Rantes*, IL-12(p70), considerando todos os pacientes (N=30), foram 47.6%, 13.2%, 15%, 27.4%, 6.5%, 36%. Essas alterações de citocinas e quimiocinas após três meses de tratamento periodontal foram estatisticamente significante quando consideramos  $P < 0.05$ . Entretanto quando foi aplicada correção de Bonferroni os mediadores que apresentaram mudanças significativas foram G-CSF ( $P=0.0002$ ) ( $P < 0.021$ ) e IL-12(p70) ( $P=0.0019$ ) ( $P < 0.021$ ).

**DISCUSSÃO**

---

Vários estudos tem sido direcionados para o entendimento das influências negativas da inflamação crônica oral na saúde sistêmica. Algumas dessas investigações sugerem que a infecção periodontal, assim como o seu tratamento tem um potencial para alterar o controle glicêmico<sup>31,32</sup>. Pesquisas afirmam que doença periodontal (DP) e *Diabetes Mellitus* (DM) apresentam uma interação bidirecional, ou seja, a diabetes está associada com o aumento e progressão da periodontite, e a infecção periodontal está associada a um pior controle glicêmico em pessoas com diabetes<sup>33,34</sup>. Além disso, pacientes com pobre controle da diabetes apresentam uma maior severidade da periodontite do que diabéticos bem controlados<sup>35,36</sup>. Esses estudos sugerem que o sucesso no tratamento da infecção periodontal provoca uma redução dos sintomas locais da doença assim como um maior controle no metabolismo da glicose<sup>25,27</sup>.

No presente estudo, foi utilizada a terapia periodontal não cirúrgica em estágio único (dentro 24 a 36 horas), a literatura mostrou que esse tipo de tratamento resulta em benefícios clínicos e microbiológicos adicionais, evidenciando uma melhora nas condições clínicas superior àquela obtida após a terapia periodontal convencional, principalmente por evitar a recolonização bacteriana dos sítios previamente desinfectados<sup>37-39</sup>. O paciente diabético é considerado um indivíduo de maior risco a infecções, em decorrência de alterações vasculares e resposta cicatricial deficiente. A terapia periodontal em estágio único foi adotada para minimizar a ocorrência de possíveis re-infecções das áreas tratadas. Esse método potencializa os benefícios do tratamento periodontal básico e reduz ao máximo o grau de inflamação, responsável pela manutenção de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias<sup>40</sup>.

O tratamento periodontal não cirúrgico de pacientes diabéticos tipo 2 associado ou não ao uso de doxiciclina<sup>®</sup> sistêmica foi avaliado nesse estudo. Os resultados mostraram uma melhora significativa nos parâmetros clínicos de inflamação periodontal, bem como o reflexo

desse resultado a nível sistêmico por meio da redução das taxas de hemoglobina glicada corroborando dados de pesquisas anteriores<sup>12,25,27</sup>, além disso verificou-se alterações de alguns marcadores inflamatórios.

Uma redução significativa de 25% na profundidade de sondagem foi observada em um dos estudos prévios do nosso grupo de pesquisa (Rodrigues *et al.*, 2003)<sup>26</sup>. Da mesma forma, observamos 25% de redução no presente estudo para RAP. Entretanto, a associação do tratamento ao uso concomitante de doxiciclina<sup>®</sup> promoveu um resultado superior (redução de 37,6% para PB). A melhora clínica superior pode ser explicada pelo efeito antimicrobiano e anti-inflamatório da medicação que é considerado um antibiótico efetivo contra a maioria dos patógenos periodontais (Grossi SG *et al.*, 1997)<sup>27</sup>.

Em relação ao ganho de inserção (Kiran *et al.*, 2005)<sup>41</sup> um estudo envolvendo diabéticos do tipo 2, com valores de hemoglobina glicada entre 6 a 8% ou seja, moderadamente controlados, obteve dados compatíveis com o estudo em questão sem a utilização de antibioticoterapia. Após três meses constatou-se 0,39mm de ganho de inserção clínico. Os resultados desse estudo são semelhantes aos dados de nosso estudo que evidenciou uma média de ganho de inserção clínico relativo de 0,5mm para o grupo que não fez uso de antibioticoterapia (RAP). Smith *et al.*,<sup>42</sup> embora tenham analisado diabéticos do tipo 1 (insulino dependentes), evidenciaram uma melhora dos parâmetros clínicos também compatível ao estudo atual, os autores descreveram uma média de redução na profundidade de sondagem em 0,9mm e ganho de inserção no valor de 0,4mm. O presente estudo encontrou médias de 0,9mm e 0,7mm para profundidade de bolsa e nível de inserção respectivamente considerando todos os pacientes (N=30).

Ao longo do estudo foram evidenciadas mudanças significativas no controle do biofilme (IP) bem como do sangramento à sondagem (SS). Na avaliação de todos os pacientes

(N=30) verificou-se uma melhora para o índice de placa (IP) de 36,2% e para SS de 77% em relação aos valores iniciais. Quando avaliamos os grupos separadamente, a redução do IP indicou uma melhora de 39,7% e 32,7% para RAP e RAP+Doxi respectivamente. Em relação ao SS a mudança foi de 72,5%(RAP) e 80% (RAP+Doxi).

Outros estudos mostraram resultados similares. (Grossi SG *et al.*, 1997)<sup>27</sup>, evidenciaram uma redução significativa de 30 a 34% no percentual de sítios com presença de biofilme bacteriano após três meses de tratamento. Rodrigues *et al.*, 2003,<sup>26</sup> observaram ao longo do estudo uma variação na diminuição do sangramento à sondagem de 63% a 65%. A redução do biofilme bacteriano nesse mesmo estudo foi de 19% a 25%. Kiran *et al.*, 2005<sup>41</sup> evidenciaram uma melhora de 60% para SS e aproximadamente 81% para o IP. Christigau *et al.*,<sup>43</sup> mostrou redução no SS de 70,3% a 27,4%, que corresponde a aproximadamente 61% de melhora em relação ao baseline, para um grupo formado por diabéticos tipo 1 e 2.

A literatura afirma que a relação sinérgica entre diabetes e doença periodontal pode ser ilustrada por estudos que demonstram que o tratamento efetivo da periodontite pode melhorar o controle metabólico desses pacientes<sup>13</sup>. De fato, estudos recentes têm demonstrado que pacientes com DP apresentam uma marcante resposta sistêmica de fase aguda<sup>44,45</sup>, a qual pode ser controlada após o tratamento periodontal<sup>46,47</sup>. Essa teoria foi confirmada pelos recentes achados desse estudo que além da melhora clínica periodontal, também obteve uma redução significativa de aproximadamente 10,7% nos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) quando comparada aos valores iniciais.

O grupo RAP+Doxi evidenciou uma redução nos níveis de HbA1c de 1,5% que corresponde a 13% de melhora. No entanto para RAP a mudança foi de 7% quando comparado ao baseline, essa alteração encontrada não foi estatisticamente significativa. Esses resultados estão em concordância com estudos anteriores que descreveram o efeito benéfico

na administração da doxiciclina<sup>®</sup> sistêmica, como adjunto ao tratamento periodontal para o controle metabólico de pacientes diabéticos. Uma dessas pesquisas foi um estudo<sup>27</sup> que verificou uma redução de 10% da HbA1c em relação ao baseline após três meses de tratamento não cirúrgico periodontal combinado à doxiciclina<sup>®</sup> sistêmica, nesse mesmo estudo o grupo controle (placebo) não mostrou mudanças significativas<sup>27</sup>.

Uma outra investigação mudando o meio de administração da droga observou uma redução significativa nos níveis de hemoglobina glicada em diabéticos tipo 2, após um mês de tratamento periodontal associado a 10mg de minociclina<sup>®</sup> local. A média na redução foi de 0,8%, que corresponde a 10,5% quando comparada aos valores basais<sup>25</sup>.

A vantagem do uso tópico da medicação seria uma menor frequência de efeitos colaterais advindos da mesma. Já o estudo em questão utilizou-se a doxiciclina<sup>®</sup> sistêmica e observou-se uma maior diferença na redução da HbA1c, (1,5%) 13% em relação ao início do estudo. Essa alteração mais evidente pode ter sido originada devido a tempos diferentes de reavaliação, bem como do meio de administração da medicação, visto que a sistêmica pode ter atingido picos mais altos e permanecido por um período de tempo maior nos fluidos gengivais e corporais. É importante destacar que no presente estudo não houve nenhum caso de efeito colateral originado pelo uso da doxiciclina<sup>®</sup> sistêmica.

O uso da doxiciclina<sup>®</sup> combinada ao tratamento periodontal antiinfecioso em pacientes diabéticos, pode ter um efeito benéfico dual. Primeiro como um antibiótico efetivo contra a maioria dos patógenos periodontais, pois o mesmo alcança concentrações no fluido gengival maior do que no soro<sup>48</sup>, mostrando-se assim um importante adjunto na eliminação dos microrganismos periodontais. Segundo como um potente modulador na resposta do paciente diabético à infecção periodontal, doxiciclina<sup>®</sup> inibe a glicação não enzimática de

proteínas extracelulares e possivelmente tem um efeito similar também na glicação de hemoglobina<sup>49</sup>.

Quando amoxicilina<sup>®</sup> e ácido clavulânico<sup>®</sup> foram usados como adjunto à terapia periodontal, nenhum efeito adicional foi observado nos níveis de hemoglobina glicada<sup>26</sup>.

Em relação à glicemia em jejum não houve alteração significativa para os grupos avaliados corroborando os dados de estudos prévios. Deve-se ressaltar que, apesar de haver pequenas diferenças nos níveis de glicemia em jejum, esse exame mede os níveis sanguíneos imediatos e são susceptíveis a grandes oscilações durante o tratamento, por essa razão ele não é considerado um bom indicador de melhora no controle glicêmico após três meses de tratamento periodontal.

É importante salientar que a permanência de um foco infeccioso em íntima associação aos tecidos periodontais leva a manutenção de uma reação inflamatória crônica local. Tal resposta leva a destruição tecidual através de mecanismos que incluem a produção de enzimas envolvidas na degradação de tecido conjuntivo que são reguladas pela produção de diversas citocinas pró e antiinflamatórias nos tecidos periodontais<sup>50,51</sup>. Esses marcadores podem então ser dosados nos soros dos pacientes, e seus níveis podem sugerir o grau de atividade inflamatória sistêmica gerada pela doença periodontal.

O nível sérico de várias citocinas, quimiocinas, e outros fatores antes e após o tratamento periodontal foi analisado nesse estudo, e verificou-se uma tendência à redução pós-terapia em 16 dos 24 mediadores investigados, quando consideramos todos os paciente do estudo (N=30). Entretanto, as amostras de soro mostraram uma alta variabilidade individual no perfil de citocinas, e não foi possível nenhuma associação definitiva entre suas concentrações e parâmetros clínicos periodontais.



Por outro lado, algumas citocinas podem estar relacionadas à infecção periodontal, em especial, algumas que manifestaram diferenças estatisticamente significante, como: IL-6, IP-10, *Faz ligand* (FasL), *Rantes*, fator de estimulação de colônias granulocíticas (G-CSF), IL-12(p70). Devido a essas alterações é especulado que a doença periodontal teria uma participação na liberação de algumas substâncias, e que essas ao mesmo tempo participaria do processo de agravamento da condição metabólica dos pacientes diabéticos. Assim a melhora da hemoglobina glicada após o tratamento periodontal verificada no atual e em vários estudos prévios, poderia ser explicada pelo fato da terapia mediar a redução de alguns fatores a nível sistêmico.

O papel da IL-6 na patogênese da periodontite tem sido relatado por estudos mostrando que a expressão da proteína IL-6 é significativamente maior nos tecidos gengivais inflamados<sup>17</sup> e está elevada no fluido gengival e no soro de pacientes com periodontite crônica<sup>19</sup> e pacientes diabéticos<sup>52</sup>.

A terapia periodontal nesse estudo reduziu significativamente em 48% os níveis no soro de IL-6 após melhora significativa nos parâmetros clínicos (PB, NCI, SS, IP) e metabólicos (HbA1c). Contrariamente, outros estudos não relataram os mesmos benefícios<sup>46,47</sup>. A mesma melhora significativa foi observada para várias quimiocinas importantes associadas com o diabetes<sup>21</sup>, como *Rantes* e IP-10 com redução de 6,5% e 13% respectivamente. Essas quimiocinas também são descritas elevadas nos tecidos periodontais inflamados sugerindo assim, uma correlação positiva entre DM e DP<sup>53,54</sup>.

A infecção periodontal provoca a liberação de algumas substâncias, dentre elas os lipopolissacarídeos (LPS). IL2 (p70), uma citocina LPS induzida, estimula a produção de interferon (INF) $\gamma$  por linfócitos T helper tipo 1<sup>55</sup>. Os níveis no soro de IL-12 reduziram 32% após a terapia periodontal enquanto os níveis de (INF) $\gamma$  mantiveram-se constantes. Isto pode

indicar uma mudança da resposta humoral mediada por células<sup>55</sup>. De maneira similar, o G-CSF produzido na presença de bactérias pelos queratinócitos gengivais, reduziu significativamente em 27%. G-CSF estimula a sobrevivência, proliferação, diferenciação, e função de células progenitoras granulocítica de neutrófilos<sup>56</sup>. *Fas ligand*, uma glicoproteína de membrana envolvida na apoptose e persistência de células inflamatórias<sup>57</sup>, está elevada durante a septicemia<sup>58</sup>. A redução significativa de 15% nos níveis de *FasL* após melhora clínica periodontal e controle metabólico pode ser indicativo de uma melhora na saúde geral.

**CONCLUSÃO**

---

Concluimos que a terapia periodontal não cirúrgica promoveu uma melhora significativa nos parâmetros clínicos de inflamação e destruição periodontal para todos os pacientes diabéticos analisados.

A terapia periodontal instituída levou a uma melhora significativa dos níveis de controle glicêmico, para o grupo de diabéticos tratados. Entretanto esta melhora apenas foi estatisticamente significante, para o grupo de pacientes que utilizou antibioticoterapia adjunta.

A redução significativa dos níveis séricos de vários marcadores inflamatórios para o grupo de diabéticos tratados, pode estar relacionada à melhora clínica periodontal e redução da hemoglobina glicada.

O efeito benéfico do tratamento periodontal em pacientes diabéticos evidenciado por nossos dados poderá contribuir para estabelecer a validade desta terapia, como parte fundamental do arsenal terapêutico dos pacientes portadores de *Diabetes Mellitus*.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

1. Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Eberhardt MS, Flegal KM, Engelgau MM, Saydah SH, Williams DE, Geiss LS, Gregg EW. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in adults in the U.S. population: National Health And Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Diabetes care* 2006;29(6):1263-8.
2. Geiss LS, Pan L, Cadwell B, Gregg EW, Benjamin SM, Engelgau MM. Changes in incidence of diabetes in U.S. adults, 1997-2003. *American journal of preventive medicine* 2006;30(5):371-7.
3. Oliver RC, Brown LJ, Loe H. Periodontal diseases in the United States population. *Journal of periodontology* 1998;69(2):269-78.
4. Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *Journal of periodontology* 1999;70(7):711-23.
5. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *Journal of periodontology* 2006;77(8):1289-303.
6. Mealey B. Diabetes and periodontal diseases. *Journal of periodontology* 1999;70(8):935-49.
7. Donahue RP, Wu T. Insulin resistance and periodontal disease: an epidemiologic overview of research needs and future directions. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 2001;6(1):119-24.

8. Thorstensson H, Kuylenstierna J, Hugoson A. Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin-dependent diabetics. *Journal of clinical periodontology* 1996;23(3 Pt 1):194-202.
9. Nishimura F, Takahashi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1998;3(1):20-9.
10. Soskolne WA. Epidemiological and clinical aspects of periodontal diseases in diabetics. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1998;3(1):3-12.
11. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes care* 1993;16(1):329-34.
12. Stewart JE, Wager KA, Friedlander AH, Zadeh HH. The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical periodontology* 2001;28(4):306-10.
13. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 2001;6(1):125-37.
14. Lalla E, Lamster IB, Stern DM, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation end products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insights into therapeutic modalities. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 2001;6(1):113-8.

15. Slots J. Casual or causal relationship between periodontal infection and non-oral disease? *Journal of dental research* 1998;77(10):1764-5.
16. Taba M, Jr., Kinney J, Kim AS, Giannobile WV. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental clinics of North America* 2005;49(3):551-71, vi.
17. Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *Journal of periodontology* 1998;69(8):899-910.
18. Abbatecola AM, Ferrucci L, Grella R, Bandinelli S, Bonafe M, Barbieri M, Corsi AM, Lauretani F, Franceschi C, Paolisso G. Diverse effect of inflammatory markers on insulin resistance and insulin-resistance syndrome in the elderly. *Journal of the American Geriatrics Society* 2004;52(3):399-404.
19. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *Journal of dental research* 2004;83(2):156-60.
20. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 2001;6(1):99-112.
21. Herder C, Haastert B, Muller-Scholze S, Koenig W, Thorand B, Holle R, Wichmann HE, Scherbaum WA, Martin S, Kolb H. Association of systemic chemokine concentrations



with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg Survey S4 (KORA S4). *Diabetes* 2005;54 Suppl 2:S11-7.

22. Taylor GW. Periodontal treatment and its effects on glycemic control: a review of the evidence. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 1999;87(3):311-6.

23. Jones JA, Miller DR, Wehler CJ, Rich SE, Krall-Kaye EA, McCoy LC, Christiansen CL, Rothendler JA, Garcia RI. Does periodontal care improve glycemic control? The Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. *Journal of clinical periodontology* 2006.

24. Promsudthi A, Pimapansri S, Deerochanawong C, Kanchanavasita W. The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral diseases* 2005;11(5):293-8.

25. Iwamoto Y, Nishimura F, Nakagawa M, Sugimoto H, Shikata K, Makino H, Fukuda T, Tsuji T, Iwamoto M, Murayama Y. The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *Journal of periodontology* 2001;72(6):774-8.

26. Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of periodontology* 2003;74(9):1361-7.

27. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, Genco RJ. Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *Journal of periodontology* 1997;68(8):713-9.
28. Schara R, Medvescek M, Skaleric U. Periodontal disease and diabetes metabolic control: a full-mouth disinfection approach. *Journal of the International Academy of Periodontology* 2006;8(2):61-6.
29. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *Journal of periodontology* 1996;67(10 Suppl):1094-102.
30. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *Journal of periodontology* 1972;43(1):38.
31. Nishimura F, Murayama Y. Periodontal inflammation and insulin resistance--lessons from obesity. *Journal of dental research* 2001;80(8):1690-4.
32. Mealey BL. Periodontal disease and diabetes: A two-way street. *Journal of the American Dental Association* (1939) 2006;137 Suppl:26S-31S.
33. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1998;3(1):51-61.

34. Mealey BL, Rethman MP. Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dentistry today* 2003;22(4):107-13.
35. Seppala B, Ainamo J. A site-by-site follow-up study on the effect of controlled versus poorly controlled insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of clinical periodontology* 1994;21(3):161-5.
36. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of periodontology* 1991;62(2):123-31.
37. Mongardini C, van Steenberghe D, Dekeyser C, Quirynen M. One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. I. Long-term clinical observations. *Journal of periodontology* 1999;70(6):632-45.
38. Quirynen M, Mongardini C, Pauwels M, Bollen CM, Van Eldere J, van Steenberghe D. One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. II. Long-term impact on microbial load. *Journal of periodontology* 1999;70(6):646-56.
39. Quirynen M, Mongardini C, van Steenberghe D. The effect of a 1-stage full-mouth disinfection on oral malodor and microbial colonization of the tongue in periodontitis. A pilot study. *Journal of periodontology* 1998;69(3):374-82.

40. Greenstein G, Lamster I. Changing periodontal paradigms: therapeutic implications. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 2000;20(4):336-57.
41. Kiran M, Arpak N, Unsal E, Erdogan MF. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical periodontology* 2005;32(3):266-72.
42. Smith GT, Greenbaum CJ, Johnson BD, Persson GR. Short-term responses to periodontal therapy in insulin-dependent diabetic patients. *Journal of periodontology* 1996;67(8):794-802.
43. Christgau M, Palitzsch KD, Schmalz G, Kreiner U, Frenzel S. Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results. *Journal of clinical periodontology* 1998;25(2):112-24.
44. Craig RG, Yip JK, So MK, Boylan RJ, Socransky SS, Haffajee AD. Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. *Journal of periodontology* 2003;74(7):1007-16.
45. Slade GD, Offenbacher S, Beck JD, Heiss G, Pankow JS. Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *Journal of dental research* 2000;79(1):49-57.

46. Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *Journal of clinical periodontology* 2003;30(4):334-40.
47. Talbert J, Elter J, Jared HL, Offenbacher S, Southerland J, Wilder RS. The effect of periodontal therapy on TNF-alpha, IL-6 and metabolic control in type 2 diabetics. *J Dent Hyg* 2006;80(2):7.
48. Lavda M, Clausnitzer CE, Walters JD. Distribution of systemic ciprofloxacin and doxycycline to gingiva and gingival crevicular fluid. *Journal of periodontology* 2004;75(12):1663-7.
49. Grossi SG. Treatment of periodontal disease and control of diabetes: an assessment of the evidence and need for future research. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 2001;6(1):138-45.
50. Salvi GE, Yalda B, Collins JG, Jones BH, Smith FW, Arnold RR, Offenbacher S. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Journal of periodontology* 1997;68(2):127-35.
51. Lalla E, Kaplan S, Chang SM, Roth GA, Celenti R, Hinckley K, Greenberg E, Papapanou PN. Periodontal infection profiles in type 1 diabetes. *Journal of clinical periodontology* 2006;33(12):855-62.

52. Kurtis B, Develioglu H, Taner IL, Balos K, Tekin IO. IL-6 levels in gingival crevicular fluid (GCF) from patients with non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), adult periodontitis and healthy subjects. *Journal of oral science* 1999;41(4):163-7.
53. Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12(2):125-35.
54. Bodet C, Chandad F, Grenier D. Porphyromonas gingivalis-induced inflammatory mediator profile in an ex vivo human whole blood model. *Clinical and experimental immunology* 2006;143(1):50-7.
55. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral microbiology and immunology* 2006;21(4):256-60.
56. Sugiyama A, Uehara A, Iki K, Matsushita K, Nakamura R, Ogawa T, Sugawara S, Takada H. Activation of human gingival epithelial cells by cell-surface components of black-pigmented bacteria: augmentation of production of interleukin-8, granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and expression of intercellular adhesion molecule 1. *Journal of medical microbiology* 2002;51(1):27-33.
57. Sawa T, Nishimura F, Ohyama H, Takahashi K, Takashiba S, Murayama Y. In vitro induction of activation-induced cell death in lymphocytes from chronic periodontal lesions by exogenous Fas ligand. *Infect Immun* 1999;67(3):1450-4.

58. De Freitas I, Fernandez-Somoza M, Essenfeld-Sekler E, Cardier JE. Serum levels of the apoptosis-associated molecules, tumor necrosis factor-alpha/tumor necrosis factor type-I receptor and Fas/FasL, in sepsis. *Chest* 2004;125(6):2238-46.

**ARTIGO EM INGLES**

---



Effect of periodontal therapy on glyceimic control and serum inflammatory markers in patients with type 2 diabetes mellitus

**Patrícia Araújo de Aquino O'Connell\* DDS, MSc**

\*Department of Bucco-Maxilo-Facial Surgery and Traumatology and Periodontology, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Financial Support: FAPESP

Correspondence: Prof.Dr. Mário Taba Júnior, Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. do Café, s/n, CEP 14040-904, Ribeirão Preto – SP – Brazil.

E-mail: [mtaba@forp.usp.br](mailto:mtaba@forp.usp.br)

**ABSTRACT**

---

Periodontitis, besides being a complication of diabetes mellitus, also influences glycemic control in patients suffering from this disease. The biological mechanism of this interaction involves the synthesis and secretion of cytokines forming a cycle of catabolic response and of periodontal destruction that contribute to the most severe forms of the disease and to the difficulties involved in glycemic control. Accepting the premise that periodontal treatment reduces the circulating and tissular levels of inflammatory mediators, this study set out to evaluate the effects of non-surgical periodontal treatment on the serum levels of glycated hemoglobin (HbA1c); on fast glucose levels and on cytokine levels after three months of therapy. Thirty (30) type 2 (HbA1c initial >8) diabetics having periodontal disease were randomly separated into two groups and received basic periodontal therapy. This was a double-blind, randomized, placebo-controlled. One of the groups was administered adjuvant systemic antibiotic therapy consisting of an initial dose of doxycycline 200mg and then a 100mg dose of this same medicine for 14 days. The other group was administered placebo following the same protocol. The results of the pre and post clinical periodontal exams were correlated to the HbA1c and to the inflammatory markers levels. The average reduction in probing depth was 0.8mm for scaling and root planing associated with a placebo (SRP) ( $P=0.00$ ), and 1.1mm for scaling and root planing associated with doxycycline (SRP+Doxy) ( $P=0.00$ ) accompanied by 0.9% ( $P=0.0541$ ) and by a 1.5% ( $P=0.0047$ ) reduction in HbA1c levels respectively.

A significant reduction ( $P<0.05$ ) of IL-6, IP-10, Human Fas Ligand, G-CSF, Rantes and IL-12p70 was also verified after three months of therapy taking into account all the study sample ( $N=30$ ).

The beneficial effects of periodontal therapy on glycemic control, as well as the potentiality of antibiotic therapy as an adjuvant in conventional periodontal treatment were

proven. It was also established that the alteration in inflammatory mediators could be related to clinical periodontal improvement and to reduction in glycated hemoglobin.

**Keywords:** periodontal therapy, diabetes mellitus, inflammatory mediators, glycated hemoglobin, antibiotic

## **INTRODUCTION**

---

Diabetes mellitus (DM) and periodontitis are common chronic diseases in adults. Both diseases are high prevalent in the world population. There are approximately 21 million children and adults in the United States (7% of the population) who have diabetes.(Cowie *et al.*, 2006) Moreover, the incidence of diabetes is also increasing annually.(Geiss *et al.*, 2006) By the year 2025, it is estimated that 300 million people will have diabetes. And, more than one in three people over age 30 have periodontitis. By a conservative estimate, 35.7 million people in the United States have periodontitis.(Genco *et al.*, 1999; Oliver *et al.*, 1998)

Diabetes mellitus is a group of metabolic disease characterized by hyperglycemia resulting from defects of insulin secretion, insulin action or both.(Mealey, 1999; Mealey and Oates, 2006) Based up these conditions, diabetes mellitus can be divided into 2 main types: Type 1 (formerly insulin-dependent diabetes mellitus) and Type 2 (formerly non-insulin-dependent diabetes mellitus) (Mealey, 1999). Type 1 DM is caused by the destruction of the pancreatic  $\beta$  cells - cells known to produce insulin. Type 2 DM results from defects in the insulin molecule or from altered cell receptors for insulin and represents impaired insulin function (insulin resistance) rather than deficiency and lack of production.(Donahue and Wu, 2001; Mealey, 1999) The chronic hyperglycemia condition of diabetes is associated with long-term damage, dysfunction, and failure of various organs, especially the eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessels.(Thorstensson *et al.*, 1996) Periodontitis is one of these complications. And, it is generally accepted that the periodontal disease is more prevalent and more severe in patients with diabetes than in non-diabetic ones.(Nishimura *et al.*, 1998; Soskolne, 1998) Indeed, the periodontal disease signs and symptoms are recognized as the “sixth complication” of diabetes.(Loe, 1993) The mechanisms involved in this process are mainly related to the increased risk of infections, impairment of the gingival fibroblast’s synthesis of collagen and glycosaminoglycan and increased crevicular fluid collagenolytic

activity.(Iacopino, 2001; Lalla *et al.*, 2001; Nishimura *et al.*, 1998; Stewart *et al.*, 2001)

There are a number of common aspects in the inflammatory response in diabetes and periodontitis (Iacopino, 2001). The relationship of both diseases represents a well recognized example of a systemic disease predisposing to oral infection and, once that infection is established, the oral infection exacerbating a systemic disease (Iacopino, 2001). Thus, the chronic gram-negative infection from the periodontal origin may be considered a potential focus of infection that aggravates the metabolic control of the diabetic patients (Slots, 1998; Soskolne, 1998). In this context, the subgingival bacteria virulence factors present in the periodontium gain a greater significance. The monocytes and macrophages respond to the dental plaque microorganisms, membrane-associated vesicles, lipopolysaccharides (LPS), and other soluble and particular fractions by secreting a number of chemokines inflammatory cytokines especially tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , prostaglandin (PG)E<sub>2</sub>, interleukin (IL)-1 $\beta$ , and IL-6 (Iacopino, 2001; Taba *et al.*, 2005). The elevation in cytokines expression by cells within the gingival connective tissue in chronic periodontitis lesions (Dongari-Bagtzoglou and Ebersole, 1998) can theoretically spill over into the circulation where it can induce or perpetuate systemic effects.

The elevated serum levels of these important mediators have been shown to have deleterious effects on glucose and lipid metabolism. TNF- $\alpha$  has been reported to interfere with lipid metabolism and to be an insulin antagonist (Abbatecola *et al.*, 2004; Iacopino, 2001). IL-6, and IL-1ra have also been reported to antagonize insulin action and to induce the release of acute phase reagents (Abbatecola *et al.*, 2004; D'Aiuto *et al.*, 2004; Iacopino, 2001; Taylor, 2001). Chemokines such as IL-8, RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed, and secreted), interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10), and eotaxin are crucial immune mediators in many physiological and pathophysiological conditions. Chemokines have been

hypothesized to be involved in macrophage infiltration into adipose tissue in obesity and might therefore play an important role in the development of obesity-related disorders like type 2 diabetes (Herder *et al.*, 2005).

Intervention trials have been performed to assess the potential effects of periodontal therapy on glycemic control in diabetic patients without conclusive strength to establish periodontal therapy as influential in improving glycemic control in either type 1 or type 2 diabetes (Jones *et al.*, 2006; Mealey and Oates, 2006; Promsudthi *et al.*, 2005; Taylor, 1999). On the other hand, several studies in diabetic patients with severe periodontitis have shown improvements in glycemic control following scaling and root planning (Grossi *et al.*, 1997; Iwamoto *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2003; Schara *et al.*, 2006). Additionally, the treatment of periodontal disease incorporating systemic doxycycline or local minocycline resulted in significant reduction in periodontal infection and inflammation followed by a short-term reduction in the levels of glycated hemoglobin (HbA1c) (Grossi *et al.*, 1996; Iwamoto *et al.*, 2001).

Considering the accumulated evidences and the necessity of further investigate the relationship of Diabetes Mellitus and Periodontal Disease, the purpose of this study was to evaluate the changes in the serum levels of glycated hemoglobin and inflammatory biomarkers after non-surgical periodontal therapy.



## **MATERIAL AND METHODS**

---

## SUBJECTS

This clinical study was carried out as a joint collaboration between the Department of Metabolic Diseases and Endocrinology – Medical School and the Department of Periodontology - Dental School of the University of São Paulo.

Approximately 2400 medical records were reviewed between 2004 and 2005 to select the patients to enter in the study. Patients that fulfilled the entry clinical criteria for the inclusion in the study were examined by an experimented periodontist (PAO) and, according to their periodontal condition, the patients were invited or not to participate in the study.

The criteria for inclusion in the study were:

- 1- Patients with type 2 diabetes with glycated hemoglobin (HbA1c) values: >8%; uncontrolled or poorly controlled diabetic patients;
- 2- DM diagnosis within the past 5 years;
- 3- At least one site with probing depth  $\geq 5$ mm and two teeth with attachment loss  $\geq 6$ mm (Machtei *et al.*, 1992);

The criteria for exclusion in the study were:

- 1- Use of antibiotics or any form of periodontal treatment in the previous 6 months;
- 2- Smoking within the past 5 years;
- 3- Pregnancy or lactancy;
- 4- Major diabetic complications.

The study was reviewed and approved by the Institutional Human Research Committee of USP and the patients were asked to sign an informed consent form. The patients who qualified for the study were rescheduled for laboratory, periodontal, radiographic, and clinical examinations.

From the initial screening, thirty-five patients presented all the inclusion criteria and agreed to participate in the study.

## **DATA COLLECTION**

The periodontal measurements were performed by a single examiner (PAO) and recorded at six sites per tooth at baseline and 3 months following the periodontal treatment in both groups. The parameters recorded were: probing pocket depth (PPD), relative attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP), suppuration, and presence or absence of biofilm at four sites per tooth.

Probing pocket depth (PPD): PPD was measured from the gingival margin to the bottom of the periodontal pocket, at six sites per tooth (mesial, central, and distal; buccally as well as lingually/palatally) using a computerized pocket probe (Florida Probe)<sup>h</sup>.

Relative attachment level (CAL): CAL was measured from the teeth crown to the bottom of the periodontal pocket at six sites per tooth (mesial, central, and distal; buccally as well as lingually/palatally) with the computerized disk probe <sup>h</sup>.

---

<sup>h</sup> Pocket probe e Disk probe Florida Probe Corporation, Gainesville, FL

Periodontal inflammation (Bleeding on probing BOP): the % of bleeding sites was assessed by gentle probing to the bottom of the pockets using a computerized probe (Florida Probe)<sup>‡</sup>.

Suppuration (SUP): the % of suppuration sites was assessed by gentle probing to the bottom of the pockets using a computerized probe (Florida Probe)<sup>‡</sup>.

Oral hygiene status – plaque index (PI): the % of plaque sites was assessed at four sites for tooth, O’Leary index.(O’Leary et al., 1972)

## **BLOOD SAMPLE**

A 15ml blood sample was obtained by venipuncture from each participant. Three tubes were used to analyze respectively the level of glycated hemoglobin<sup>‡</sup>; fasting plasma glucose<sup>†</sup> and serum were obtained by venipuncture of each patient before and after therapy. Serum was collected by centrifugation, aliquoted, and stored until further analyses at - 4°C.

---

<sup>‡</sup> Labtest Sistemas para Diagnóstico, SP, Brasil

<sup>†</sup> Glicose GOD-ANA enzimática, Labtest, SP, Brasil

## MEDICAL AND IMMUNOLOGICAL EXAMINATION

For the metabolic assessment, peripheral blood samples were taken from each patient and analyzed for fasting plasma glucose (FPG)<sup>†</sup>, glycated haemoglobin (HbA1c)<sup>‡</sup>. The fasting plasma glucose (FPG)<sup>†</sup> was expressed in mg/dl and measured by glucose oxidase method, and glycated hemoglobin (HbA1c)<sup>‡</sup> was expressed in percentage, and measured by high-pressure liquid chromatography. Metabolic measurements were performed in baseline and at 3 month following the periodontal treatment in the two groups.

Before and after treatment, a small serum samples was collected from the patients and frozen -4°C, to be analyzed. These samples were use for simultaneously identifying the types and measuring the levels of multiple different molecules using the flow cytometric BD<sup>™</sup> Cytometric Bead Array (CBA)<sup>§</sup> Multiplex Assays. The multiplex BD<sup>™</sup> Cytometric Bead Array (CBA)<sup>§</sup> employs a series of different particles that are stably labeled with a fluorescent dye whose emission wavelength is read at ~650nm<sup>3</sup>. Each different group of beads is labeled with a discrete level of fluorescent dye so that it can be distinguished by its mean fluorescent intensity (MFI) upon flowcytometric analysis. In addition, beads within each group are covalently coupled with antibodies that can specifically capture a particular type of molecule present within biological fluids.

---

<sup>§</sup> BD Cytometric Bead Array (CBA), BD Biosciences, USA

## **PERIODONTAL TREATMENT**

All subjects underwent periodontal examination and treatment by a single experienced and calibrated periodontist (PAO). This was a double-blind, randomized, placebo-controlled. Subjects were randomly assigned into two groups: full-mouth scaling and root planning with placebo (SRP; n=15) or full-mouth scaling and root planning in combination with Doxycycline 100mg/d for 2 weeks after initial dosage of 200mg (SRP+Doxy, n=15). The SRP group received placebo instead of Doxycycline following the same dosage. The antibiotic therapy started on the day before of the periodontal treatment.

All patients received scaling and root planning, sessions were performed under local anesthesia by the same investigator using hand instruments (Gracey curettes, HuFriedy Instruments, Chicago, IL, USA) and an ultrasonic device.

The patients received oral hygiene instruction and full-mouth scaling and root planning in 2 to 4 sessions within 24 to 36 hours performed under local anesthesia. Oral hygiene control and reinstruction were reviewed two times monthly, followed by prophylaxis until the end of 3 months.

## **STATISTICAL ANALYSIS**

Mean CAL, PD, BOP, PI, missing teeth, HbA1c, fasting glucose, and serum biomarkers were calculated for each subject and group and were compared between the two groups using a two-sample Student t test or the Mann-Whitney U test. To compare the

values between the baseline and after 3 months paired Student t test or Wilcoxon Rank Sum Test was used. The data were tested for normality before applying the adequate parametric or non-parametric tests. The results were considered statistically significant when p-value was less than 0.05. Bonferroni correction was applied in the serum biomarkers analysis and the alpha level adjusted downward.

## **RESULTS**

---



From the initial 35 examined patients, 5 were excluded of the analysis. Two patients did not accomplish the treatment phase, one patient died and two of them excluded because they had to use an anti-coagulant agent. The final enrolled sample comprises 30 poorly controlled diabetic patients with elevated to severe HbA1c serum levels of 11.2% in average. Sixteen (53.3%) were women and 14 (46.7%) men with the mean age of 52.9 years old and 21.1 remaining teeth. According to the allocated groups, SRP group consisted of 9 women and 6 men with the mean age of 53.5±13.6 years old and the SRP+Doxy group consisted of 7 women and 8 men with mean age of 52.3±6.3 years (**Table 1**). At baseline, both groups had similar mean values for age, gender, plaque and gingival bleeding scores as well as severity of periodontal disease measured by probing pocket depth and clinical attachment level (**Table 2**). Also, both groups had similar average values for the metabolic parameters ( $p > 0.05$ )

## PERIODONTAL PARAMETERS

The periodontal treatment protocol SRP or SRP+Doxy applied to this study promoted statistically significant improvement of almost all the analyzed variables after 3 months. The overall (N=30) average results showed PD reduction of 0.9mm and CAL gain of 0.7mm. The plaque score dropped 23%, the BOP dropped 38%, and none SUP was observed after 3 months (**Table 5**). The PD and CAL reductions for SRP and SRP+Doxy groups were 0.5mm and 0.9mm and 0.8mm and 1.1mm respectively with no statistically significant differences between groups after 3 months (**Fig. 3**). The high prevalence of BOP, 49.1% (SRP) and 51.3% (SRP+Doxy), may be read as an indicator of generalized periodontal inflammation.

After 3 months, the reductions were not different between groups, SRP showed a reduction of 34.9% and SRP+Doxy 42.4% (**Table 4**).

The oral hygiene status was evaluated at baseline and twice a month during 3 months. Both groups showed significant reductions in PI scores. SRP showed a reduction of 22.2% and SRP+Doxy 23.8% with no statistically significant differences between groups (**Fig. 5**).

### **METABOLIC PARAMETERS**

The normal healthy range for the HbA1c levels is 4.5 – 6%. In our study, the mean HbA1c values were 10.7% for the SRP and 11.8% for the SRP+Doxy. The diabetes was poorly controlled in both groups. **Table 9** After 3 months, the periodontal therapy promoted a significant reduction on the average (N=30) HbA1c levels of 10.7%. The differences in HbA1c levels after 3 month for each separate group were 0.9% for SRP and 1.5% for SRP+Doxy. These reductions equate respectively to approximately 7% improvements for SRP and 13% for SRP+Doxy (**Fig. 7**). For the fasting plasma glucose levels, there were a slightly reduction from 228.3mg/dl to 217mg/dl after therapy that was not statistically significant (**Table 8**). The differences in fasting glucose levels were 21.7mg/dl for SRP and 0.9mg/dl for SRP+Doxy. (**Fig. 9**).

## IMMUNOLOGICAL PARAMETERS

The periodontal treatment protocol SRP or SRP+Doxy applied to this study lead to improvement in sixteen of twenty-four cytokines analyzed after 3 months (**Table 10**). The IL-6, IP-10, Human Fas Ligand, G-CSF, RANTES, IL-12 (p70) overall reductions (N=30) were 47.6%, 13.2%, 15%, 27.4%, 6.5% and 36% respectively. These changes in cytokines and chemokines serum levels were statistically significant for  $p < 0.05$ . However, when Bonferroni correction was used the significant mediators were only G-CSF ( $P=0.0002$ ) and IL-12 (p70) ( $P=0.0019$ ).

**DISCUSSION**

---

Evidences suggest that periodontitis and its treatment have the potential to alter glycemic control (Mealey, 2006; Nishimura and Murayama, 2001). Also, support the relationship between diabetes and periodontal diseases as bidirectional; that is, diabetes is associated with the increased occurrence and progression of periodontitis (Emrich *et al.*, 1991; Seppala and Ainamo, 1994), and this in turn is associated with poorer glycemic control (Grossi and Genco, 1998; Mealey and Rethman, 2003). These studies suggest that the successful management of periodontal infection leads to a reduction of the local symptoms and markers of the disease and also to a superior control of glucose metabolism (Grossi *et al.*, 1997; Iwamoto *et al.*, 2001).

Considering the diabetic patients are at high risk for infections due to vascular alterations and deficient healing response, the one-stage periodontal therapy within 24 to 36 hours associated or not with systemic doxycycline was adopted in order to minimize the possible re-infection of the treated areas (Mongardini *et al.*, 1999; Quirynen *et al.*, 1998; Quirynen *et al.*, 1999) and maximally reduced edema, which is responsible for the continued maintenance of high levels of pro-inflammatory cytokines (Greenstein and Lamster, 2000).

The results showed improvements in all the monitored clinical parameters that were reflected in the systemic level by the glycated hemoglobin reductions as verified in previous studies (Grossi *et al.*, 1997; Iwamoto *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2001) and also by alterations in inflammatory serum markers.

A significant reduction of 25% in the probing pocket depth was observed in a previous study of our group (Rodrigues *et al.*, 2003). Consistently, we observed a 25.2% probing pocket depth reduction for SRP. However, the association with doxycycline promoted superior results, 37.6% for SRP+Doxy. The superior result can be explained by both

antimicrobial and the additional anti-inflammatory effect of the drug (Grossi *et al.*, 1997; Sorsa *et al.*, 1992). The CAL change of 0.7mm is in accordance with previous studies (Kiran *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 1996).

Significant changes in biofilm control as well as in BOP were evidenced throughout the study. The overall average PI improvement was 36.2% and the BOP 77% over baseline. The reductions in PI indicated improvements of 39.7% and 32.7% for SRP and SRP+Doxy respectively. For BOP, the improvements were 72.5% (SRP) and 80% (SRP+Doxy). Other studies showed similar results. PI reduction of 30 to 34% (Grossi *et al.*, 1997), 19 % to 25% (Rodrigues *et al.*, 2003) and 81% (Kiran *et al.*, 2005). For BOP, 63% to 65% (Rodrigues *et al.*, 2003), 60% (Kiran *et al.*, 2005) and 61% (Christgau *et al.*, 1998).

The hypothesis that the effective treatment of periodontitis can improve metabolic control (Grossi *et al.*, 1997; Iacopino, 2001; Iwamoto *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2003) was again confirmed by this study which besides the periodontal improvement also obtained a significant reduction in HbA1c levels. A 10.7% improvement in average when compared to baseline values. The SRP+Doxy group showed a significant reduction of 1.5% which correspond to 13% improvement. However, for SRP, the change was only 7%. One study (Grossi *et al.*, 1997) verified a 10% HbA1c reduction after 3 months of non-surgical periodontal treatment combined with systemic doxycycline and no significant change in the control group (Grossi *et al.*, 1997). Another investigation (Iwamoto *et al.*, 2001) that administrated 10mg of local minocycline showed a significant reduction in HbA1c after 1 month. The average reduction was 0.8% which corresponds to 10.5% when compared to baseline (Iwamoto *et al.*, 2001).

The use of doxycycline combined with anti-infectious mechanical periodontal treatment in diabetic patients is justified as follows. First, as a broad-spectrum antibiotic

effective against most periodontal pathogens, doxycycline reaches concentrations in the gingival fluid higher than in serum levels (Lavda *et al.*, 2004), thus providing an important adjunct in the reduction of local periodontal pathogens. Second, as a potent modulator of the diabetic patient's host response and metalloproteinases inhibitor (Reddy *et al.*, 2003), doxycycline also inhibits non-enzymatic glycation of extra-cellular proteins and possibly has a similar effect on the glycation of hemoglobin (Grossi, 2001). On the other hand, when amoxicillin with clavulanic acid was used as the adjunctive periodontal therapy no additional effect was observed on the HbA1c levels (Rodrigues *et al.*, 2003).

Besides the methodology differences, it is important to address the level of DM metabolic control of the patients in the baseline. The poorly controlled diabetic patients of this study seem to demonstrate the greatest differences between the initial and final levels of HbA1c. However, a larger study with balanced group is necessary to support this observation.

Both groups did not manifest a significant alteration in fast glucose levels. This fact is in accordance with data found in previous studies (Grossi *et al.*, 1997; Iacopino, 2001; Iwamoto *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2003). It should be emphasized that despite having small differences in fast glucose levels, the measures are susceptible to great oscillations during the treatment. For this reason, this examination is not considered to be a good indicator for the level of improvement in glycemic control.

Sixteen of the 24 investigated serum mediators were, on average, higher in the baseline than after the periodontal treatment for all diabetic patients (N=30). However, serum samples showed high individual variability of cytokine profiles, and no definitive association between their concentrations and clinical parameters of periodontitis was possible.

On the other hand, some cytokines may possibly be related to periodontal infection, especially those that manifested statistically significant differences; such as, IL-6, IP-10, Fas ligand (FasL), RANTES, Granulocyte Colony-stimulating Factor (G-CSF), IL-12 (p70). Because of these alterations, it is speculated that periodontal disease could have a participation in the liberation of such substances. And, these in turn could participate in the deterioration of the metabolic condition of the diabetic patients. Thus, the improvement in glycated hemoglobin verified in this study and previous studies could be explained by the fact that this therapy mediates the reduction of some markers in the systemic level.

The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontitis has been supported by studies showing that IL-6 protein expression is significantly up-regulated in inflamed gingival tissues (Dongari-Bagtzoglou and Ebersole, 1998) and is elevated in the gingival crevicular fluid and serum of chronic periodontitis (D'Aiuto *et al.*, 2004) and diabetic patients (Kurtis *et al.*, 1999). Also, increased circulating levels of IL-6 shows significant correlation with HbA1c and progression of diabetic nephropathy (Esposito *et al.*, 2002). In a more general sense, an augmented acute-phase response mediated by IL-6 may be a mechanism that explains many of the clinical and biochemical features of type 2 diabetes and its complications (Esposito *et al.*, 2002).

The periodontal therapy in this study significantly reduced the IL-6 serum levels by 48% following the significant improvements in the clinical (PD, CAL, BOP) and metabolic (HbA1c) measures. Conversely, other studies did not report the same benefits (Ide *et al.*, 2003; Talbert *et al.*, 2006). The same significant trend was observed for important diabetes associated chemokines (Herder *et al.*, 2005) such as RANTES and IP-10 with 6.5% and 13% reduction respectively. These chemokines have been described elevated in inflamed



periodontal tissues, therefore corroborate a positive correlation (Bodet *et al.*, 2006; Taubman and Kawai, 2001).

IL-12 (p70), a LPS induced cytokine, stimulates interferon (INF)- $\gamma$  production by T helper type 1 cells (Orozco *et al.*, 2006). The IL-12 serum levels reduced by 32% after the periodontal therapy whereas INF- $\gamma$  serum level was maintained constant. This may indicate a shift in the balance of cell-mediated and humoral response (Orozco *et al.*, 2006). Similarly, the G-CSF, produced in the presence of bacteria by gingival keratinocytes, reduced significantly by 27%. G-CSF also stimulates the survival, proliferation, differentiation, and function of neutrophil granulocyte progenitor cells and mature neutrophils (Sugiyama *et al.*, 2002). Fas ligand, a transmembrane glycoproteins involved in apoptosis and persistence of inflammatory cells (Sawa *et al.*, 1999), is elevated during sepsis (De Freitas *et al.*, 2004). The significant reduction of 15% in the FasL and G-CSF serum levels followed by clinical and metabolic improvements may be indicative of general health amelioration.

## **REFERENCES**

---

Abbatecola AM, Ferrucci L, Grella R, Bandinelli S, Bonafe M, Barbieri M, et al. (2004). Diverse effect of inflammatory markers on insulin resistance and insulin-resistance syndrome in the elderly. *J Am Geriatr Soc* 52(3):399-404.

Bodet C, Chandad F, Grenier D (2006). Porphyromonas gingivalis-induced inflammatory mediator profile in an ex vivo human whole blood model. *Clin Exp Immunol* 143(1):50-7.

Christgau M, Palitzsch KD, Schmalz G, Kreiner U, Frenzel S (1998). Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results. *J Clin Periodontol* 25(2):112-24.

Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Eberhardt MS, Flegal KM, Engelgau MM, et al. (2006). Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in adults in the U.S. population: National Health And Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Diabetes Care* 29(6):1263-8.

D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, et al. (2004). Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res* 83(2):156-60.

De Freitas I, Fernandez-Somoza M, Essenfeld-Sekler E, Cardier JE (2004). Serum levels of the apoptosis-associated molecules, tumor necrosis factor-alpha/tumor necrosis factor type-I receptor and Fas/FasL, in sepsis. *Chest* 125(6):2238-46.

Donahue RP, Wu T (2001). Insulin resistance and periodontal disease: an epidemiologic overview of research needs and future directions. *Ann Periodontol* 6(1):119-24.

Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL (1998). Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *J Periodontol* 69(8):899-910.

Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ (1991). Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 62(2):123-31.

Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. (2002). Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 106(16):2067-72.

Geiss LS, Pan L, Cadwell B, Gregg EW, Benjamin SM, Engelgau MM (2006). Changes in incidence of diabetes in U.S. adults, 1997-2003. *Am J Prev Med* 30(5):371-7.

Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA (1999). Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *J Periodontol* 70(7):711-23.

Greenstein G, Lamster I (2000). Changing periodontal paradigms: therapeutic implications. *Int J Periodontics Restorative Dent* 20(4):336-57.

Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ (1996). Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol* 67(10 Suppl):1094-102.

Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, et al. (1997). Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *J Periodontol* 68(8):713-9.

Grossi SG, Genco RJ (1998). Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol* 3(1):51-61.

Grossi SG (2001). Treatment of periodontal disease and control of diabetes: an assessment of the evidence and need for future research. *Ann Periodontol* 6(1):138-45.

Herder C, Haastert B, Muller-Scholze S, Koenig W, Thorand B, Holle R, et al. (2005). Association of systemic chemokine concentrations with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg Survey S4 (KORA S4). *Diabetes* 54 Suppl 2(S11-7).

Iacopino AM (2001). Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Ann Periodontol* 6(1):125-37.

Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF (2003). Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol* 30(4):334-40.

Iwamoto Y, Nishimura F, Nakagawa M, Sugimoto H, Shikata K, Makino H, et al. (2001). The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol* 72(6):774-8.

Jones JA, Miller DR, Wehler CJ, Rich SE, Krall-Kaye EA, McCoy LC, et al. (2006). Does periodontal care improve glycemic control? The Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. *J Clin Periodontol*.

Kiran M, Arpak N, Unsal E, Erdogan MF (2005). The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 32(3):266-72.

Kurtis B, Develioglu H, Taner IL, Balos K, Tekin IO (1999). IL-6 levels in gingival crevicular fluid (GCF) from patients with non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), adult periodontitis and healthy subjects. *J Oral Sci* 41(4):163-7.

Lalla E, Lamster IB, Stern DM, Schmidt AM (2001). Receptor for advanced glycation end products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insights into therapeutic modalities. *Ann Periodontol* 6(1):113-8.

Lavda M, Clausnitzer CE, Walters JD (2004). Distribution of systemic ciprofloxacin and doxycycline to gingiva and gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 75(12):1663-7.

Loe H (1993). Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 16(1):329-34.

Mealey B (1999). Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol* 70(8):935-49.

Mealey BL, Rethman MP (2003). Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dent Today* 22(4):107-13.

Mealey BL (2006). Periodontal disease and diabetes: A two-way street. *J Am Dent Assoc* 137 Suppl(26S-31S).

Mealey BL, Oates TW (2006). Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol* 77(8):1289-303.

Mongardini C, van Steenberghe D, Dekeyser C, Quirynen M (1999). One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. I. Long-term clinical observations. *J Periodontol* 70(6):632-45.

Nishimura F, Takahashi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y (1998). Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. *Ann Periodontol* 3(1):20-9.

Nishimura F, Murayama Y (2001). Periodontal inflammation and insulin resistance--lessons from obesity. *J Dent Res* 80(8):1690-4.

O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE (1972). The plaque control record. *J Periodontol* 43(1):38.

Oliver RC, Brown LJ, Loe H (1998). Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol* 69(2):269-78.

Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ (2006). Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 21(4):256-60.

Promsudthi A, Pimapsri S, Deerochanawong C, Kanchanasavita W (2005). The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral Dis* 11(5):293-8.

Quirynen M, Mongardini C, van Steenberghe D (1998). The effect of a 1-stage full-mouth disinfection on oral malodor and microbial colonization of the tongue in periodontitis. A pilot study. *J Periodontol* 69(3):374-82.

Quirynen M, Mongardini C, Pauwels M, Bollen CM, Van Eldere J, van Steenberghe D (1999). One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. II. Long-term impact on microbial load. *J Periodontol* 70(6):646-56.

Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC (2003). Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol* 8(1):12-37.

Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF (2003). Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol* 74(9):1361-7.

Sawa T, Nishimura F, Ohyama H, Takahashi K, Takashiba S, Murayama Y (1999). In vitro induction of activation-induced cell death in lymphocytes from chronic periodontal lesions by exogenous Fas ligand. *Infect Immun* 67(3):1450-4.

Schara R, Medvescek M, Skaleric U (2006). Periodontal disease and diabetes metabolic control: a full-mouth disinfection approach. *J Int Acad Periodontol* 8(2):61-6.

Seppala B, Ainamo J (1994). A site-by-site follow-up study on the effect of controlled versus poorly controlled insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 21(3):161-5.

Slots J (1998). Casual or causal relationship between periodontal infection and non-oral disease? *J Dent Res* 77(10):1764-5.

Smith GT, Greenbaum CJ, Johnson BD, Persson GR (1996). Short-term responses to periodontal therapy in insulin-dependent diabetic patients. *J Periodontol* 67(8):794-802.

Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Halinen S, Saari H, Konttinen YT, et al. (1992). Cellular source and tetracycline-inhibition of gingival crevicular fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 19(2):146-9.

Soskolne WA (1998). Epidemiological and clinical aspects of periodontal diseases in diabetics. *Ann Periodontol* 3(1):3-12.

Stewart JE, Wager KA, Friedlander AH, Zadeh HH (2001). The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 28(4):306-10.

Sugiyama A, Uehara A, Iki K, Matsushita K, Nakamura R, Ogawa T, et al. (2002). Activation of human gingival epithelial cells by cell-surface components of black-pigmented bacteria: augmentation of production of interleukin-8, granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and expression of intercellular adhesion molecule 1. *J Med Microbiol* 51(1):27-33.

Taba M, Jr., Kinney J, Kim AS, Giannobile WV (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 49(3):551-71, vi.

Talbert J, Elter J, Jared HL, Offenbacher S, Southerland J, Wilder RS (2006). The effect of periodontal therapy on TNF-alpha, IL-6 and metabolic control in type 2 diabetics. *J Dent Hyg* 80(2):7.

Taubman MA, Kawai T (2001). Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* 12(2):125-35.

Taylor GW (1999). Periodontal treatment and its effects on glycemic control: a review of the evidence. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 87(3):311-6.

Taylor GW (2001). Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol* 6(1):99-112.

Thorstensson H, Kuylenstierna J, Hugoson A (1996). Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol* 23(3 Pt 1):194-202.





## TABLES LEGENDS

<b>Table 1:</b> Population Demographics	97
<b>Table 2:</b> Clinical periodontal status between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects – baseline	97
<b>Table 3:</b> Clinical periodontal status between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects - 3 months following the periodontal treatment Values are shown as mean $\pm$ SD - $N = 15$	98
<b>Table 4:</b> Clinical periodontal status baseline and 3 months following the periodontal treatment SRP (placebo) – G1 and SRP+Doxy (doxycyclina)-G2 in diabetic subjects	99
<b>Table 5:</b> Clinical periodontal status baseline and 3 months following the periodontal treatment in diabetic subjects	100
<b>Table 6:</b> Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects – baseline	100
<b>Table 7:</b> Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects – 3 months following the periodontal treatment	101
<b>Table 8:</b> Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) baseline and 3 months following the periodontal treatment in diabetic subjects	101
<b>Table 9:</b> Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) baseline and 3 months following the periodontal treatment SRP (placebo) – G1 and SRP+Doxy (doxycyclina)-G2 in diabetic subjects	102
<b>Table 10:</b> Serum cytokines (pg/ml) baseline and 3 <sup>rd</sup> months following the periodontal treatment - diabetic patients	103

**Table 1:** Population Demographics

Variable	Whole population	SRP	SRP+Doxy
	N = 30	N = 15	N = 15
<b>Gender</b>			
<b>Male</b>	14	6	8
<b>Female</b>	16	9	7
<b>Mean age years</b>	52.9 ± 10.4	53.5 ± 13.6	52.3 ± 6.3

SRP: full-mouth scaling and root planning + placebo.

SRP+Doxy: full-mouth scaling and root planing in combination with doxycyclina.

**Table 2:** Clinical periodontal status between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects - baseline

Clinical parameters	SRP	SRP+Doxy	<i>p</i> -value
<b>PD</b>	2.9 ± 0.2	3.0 ± 0.1	0.1150
<b>NIC</b>	10.2 ± 1.3	10.7 ± 1.6	0.3389
<b>PI %</b>	59.7 ± 18.8	69.9 ± 17.3	0.1327
<b>BOP %</b>	49.9 ± 18.5	51.3 ± 14.9	0.7187
<b>SUP %</b>	0.7 ± 1.4	1.6 ± 2.4	0.1235
<b>n-tooth</b>	21.9 ± 6.5	20.2 ± 6.7	0.1057

Values are shown as mean ± SD - *N* = 15

The parameters NIC, IP, BOP, were assessed by the Student t-test

The parameters PD, SUP, n-tooth were assessed by the Mann-Whitney *U* -test

**Table 3:** Clinical periodontal status between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects - 3 months following the periodontal treatment  
Values are shown as mean  $\pm$  SD -  $N = 15$

<b>Clinical parameters</b>	<b>SRP</b>	<b>SRP+Doxy</b>	<b><i>p</i>-value</b>
<b>PD</b>	2.1 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	0.0465
<b>NIC</b>	9.7 $\pm$ 1.4	9.8 $\pm$ 1.6	0.8520
<b>PI %</b>	37.5 $\pm$ 19.0	46.1 $\pm$ 14.2	0.1750
<b>BOP %</b>	14.2 $\pm$ 12.5	8.9 $\pm$ 4.8	0.2998
<b>SUP %</b>	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1.0000
<b>n-tooth</b>	21.7 $\pm$ 6.4	18.3 $\pm$ 7.0	0.1248

The parameters NIC, IP, Sup, were assessed by the Student t-test

The parameters PD, BOP, n-tooth were assessed by the Mann-Whitney *U* -test

**Table 4:** Clinical periodontal status baseline and 3 months following the periodontal treatment SRP (placebo) – G1 and SRP+Doxy (doxycyclina)-G2 in diabetic subjects

<b>Clinical parameters</b>	<b>Time 1</b>	<b>Time 2</b>	<b>p-value</b>	
<b>PD G1</b>	2.9 ± 0.2	2.1 ± 0.1	0.0001*	↓
<b>PD G2</b>	3.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1	<0.0001*	↓
<b>NIC G1</b>	10.2 ± 1.3	9.7 ± 1.4	0.0054*	↓
<b>NIC G2</b>	10.7 ± 1.6	9.8 ± 1.6	<0.0001*	↓
<b>PI G1 %</b>	59.7 ± 18.8	37.5 ± 19.0	<0.0001*	↓
<b>PI G2 %</b>	69.9 ± 17.3	46.1 ± 14.2	<0.0001*	↓
<b>BOP G1 %</b>	49.1 ± 18.5	14.2 ± 12.5	<0.0001*	↓
<b>BOP G2 %</b>	51.3 ± 14.9	8.9 ± 4.8	<0.0001*	↓
<b>SUP G1 %</b>	0.7 ± 1.4	0.0 ± 0.0	0.2500	↓
<b>SUP G2 %</b>	1.6 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0039*	↓
<b>n-tooth G1</b>	21.9 ± 6.5	21.7 ± 6.4	0.2500	↓
<b>n-tooth G2</b>	20.2 ± 6.7	18.3 ± 7.0	0.0005*	↓

\* significant difference -  $p < 0.05$

Values are shown as mean ± SD -  $N = 15$

G1: full-mouth scaling and root planning + placebo (SRP)

G2: full-mouth scaling and root planning in combination with doxycyclina (SRP+Doxy)

Time 1- diabetic patients - baseline

Time 2- diabetic patients - 3 months after periodontal treatment

The parameters NIC G1, IP G1, BOP G1, PD G2, NIC G2, IP G2, BOP G2, n-tooth G2 were assessed by the Student t-test

The parameters PD G1, SUP G1, n-dentes G1, SUP G2, were assessed by the Wilcoxon signed ranks test

**Table 5:** Clinical periodontal status baseline and 3 months following the periodontal treatment in diabetic subjects

<b>Clinical parameters</b>	<b>Time 1</b>	<b>Time 2</b>	<b><i>p</i>-value</b>	
<b>PD</b>	2.9 ± 0.7	2.0 ± 0.3	<0.0001*	↓
<b>NIC</b>	10.5 ± 1.5	9.8 ± 1.5	<0.0001*	↓
<b>PI %</b>	64.8 ± 18.5	41.8 ± 17.1	<0.0001*	↓
<b>BOP %</b>	50.0 ± 16.5	12.0 ± 9.7	<0.0001*	↓
<b>SUP %</b>	1.1 ± 2.0	0.0 ± 0.0	0.0005*	↓
<b>n-tooth</b>	21.1 ± 6.6	20.0 ± 6.9	0.0005*	↓

\* significant difference -  $p < 0.05$

Values are shown as mean ± SD -  $N = 30$

Time 1- diabetic patients - baseline

Time 2- diabetic patients - 3 months after periodontal treatment

The parameters PD, NIC, IP, BOP, n-tooth were assessed by the Student t-test

The parameters SUP, were assessed by the Wilcoxon signed ranks test

**Table 6:** Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects – baseline

<b>Metabolic control</b>	<b>SRP</b>	<b>SRP+Doxy</b>	<b><i>p</i>-value</b>
<b>HbA1c %</b>	10.7 ± 0.5	11.8 ± 0.4	0.1055
<b>Fasting glucose</b>	219.1 ± 27.8	237.5 ± 21.8	0.6051

Values are shown as mean ± SD -  $N = 15$

The parameters HbA1c, fasting glucose were assessed by the Student t-test

**Table 7:** Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) between groups SRP (placebo) and SRP+Doxy (doxycyclina) in diabetic subjects – 3 months following the periodontal treatment

Metabolic control	SRP	SRP+Doxy	<i>p</i> -value
<b>HbA1c %</b>	9.8 ± 0.5	10.3 ± 0.6	0.5672
<b>HbA1c dif %</b>	0.9 ± 1.6	1.5 ± 1.7	0.2808
<b>HbA1c imp %</b>	7 ± 3.7	13 ± 3.9	0.3173
<b>Fasting glucose</b>	197.4 ± 24.1	236.6 ± 24.6	0.1711

Values are shown as mean ± SD - *N* = 15

The parameters HbA1c, HbA1c imp, were assessed by the Student t-test

The parameters HbA1c dif, fasting glucose were assessed by the Mann -Whitney *U* -test

**Table 8:** Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) baseline and 3 months following the periodontal treatment in diabetic subjects

Metabolic control	Time 1	Time 2	<i>p</i> -value	
<b>HbA1c %</b>	11.2 ± 0.5	10.0 ± 0.5	0.0005*	↓
<b>Fasting Glucose</b>	228.3 ± 95.5	217.0 ± 94.7	0.4589	↓

\* significant difference – *p* < 0.05

Values are shown as mean ± SD - *N* = 30

Time 1- diabetic patients - baseline

Time 2- diabetic patients - 3 months after periodontal treatment

The parameters HbA1c, Fasten Glucose, were assessed by the Student t-test

**Table 9:** Level of metabolic control (HbA1c and fasting glucose) baseline and 3 months following the periodontal treatment SRP (placebo) – G1 and SRP+Doxy (doxycyclina)-G2 in diabetic subjects

<b>Metabolic control</b>	<b>Time 1</b>	<b>Time 2</b>	<b><i>p</i>-value</b>	
<b>HbA1c % G1</b>	10.7 ± 0.5	9.8 ± 0.5	0.0541	↓
<b>HbA1c % G2</b>	11.8 ± 0.4	10.3 ± 0.6	0.0047*	↓
<b>Fasting Glucose G1</b>	219.1 ± 27.8	197.4 ± 24.1	0.2928	↓
<b>Fasting Glucose G2</b>	237.5 ± 21.8	236.6 ± 24.6	0.9693	↓

\* significant difference -  $p < 0.05$

Values are shown as mean ± SD -  $N = 15$

Time 1- diabetic patients - baseline

Time 2- diabetic patients - 3 months after periodontal treatment

The parameters HbA1c G1, FG G1, HbA1c G2, FG G2 were assessed by the Student t-test

**Table 10:** Serum cytokines (pg/ml) baseline and 3<sup>rd</sup> months following the periodontal treatment - diabetic patients

<b>Mediator</b>	<b>Time 1</b>	<b>Time 2</b>	<b>p-value</b>	
<b>IL-2</b>	5.9 ± 15.6	5.0 ± 14.7	0.8203	↓
<b>IL-4</b>	0.6 ± 1.3	0.5 ± 1.4	0.6953	↓
<b>IL-5</b>	1.6 ± 1.5	1.1 ± 1.2	0.1035	↓
<b>IL-6</b>	2.1 ± 1.7	1.1 ± 1.1	0.0055*	↓
<b>IL-7</b>	1.2 ± 2.6	1.1 ± 2.1	0.9460	↓
<b>IL-8</b>	9.0 ± 6.0	10.6 ± 13.9	0.6216	↑
<b>IL-1 β</b>	0.3 ± 1.6	0.3 ± 1.5	1.0000	=
<b>IP-10</b>	90.8 ± 43.7	78.8 ± 37.5	0.0142 *	↓
<b>IL-9</b>	0.7 ± 2.6	0.9 ± 3.4	0.8750	↑
<b>IL-10</b>	1.0 ± 2.2	0.7 ± 0.9	0.8040	↓
<b>MIP-1 α</b>	156.6 ± 558.2	157.2 ± 596.1	0.8457	↑
<b>B FGF</b>	0.4 ± 2.2	0.0 ± 0.0	1.0000	↓
<b>FAS Ligand</b>	16.6 ± 9.3	14.1 ± 8.4	0.0036 *	↓
<b>EOTAXIN</b>	86.1 ± 36.2	89.7 ± 39.2	0.3962	↑
<b>G-CSF</b>	7.3 ± 2.9	5.3 ± 2.4	0.0002 *	↓
<b>GM-CSF</b>	0.4 ± 1.3	0.1 ± 0.6	0.5000	↓
<b>RANTES</b>	18026.0 ± 2943.3	16845.1 ± 2985.0	0.0292 *	↓
<b>LT- α</b>	0.4 ± 1.5	0.3 ± 1.3	0.2500	↓
<b>MCP-1</b>	122.2 ± 96.7	132.3 ± 100.2	0.2101	↑
<b>TNF α</b>	0.3 ± 1.4	0.3 ± 1.1	1.0000	=
<b>MIP 1- β</b>	104.9 ± 78.5	94.4 ± 66.9	0.2243	↓
<b>IL12 p70</b>	2.5 ± 1.3	1.6 ± 1.4	0.0019 *	↓
<b>INF γ</b>	2.8 ± 7.4	3.3 ± 10.8	1.0000	↑
<b>MIG</b>	267.3 ± 297.6	172.2 ± 146.9	0.3389	↓

\* significant difference -  $p < 0.05$  Bonferroni correction  $p < 0.0021$

Continua...



*Continuação*

$N = 30$

Time 1- diabetic patients - baseline

Time 2- diabetic patients - 3 months after periodontal treatment

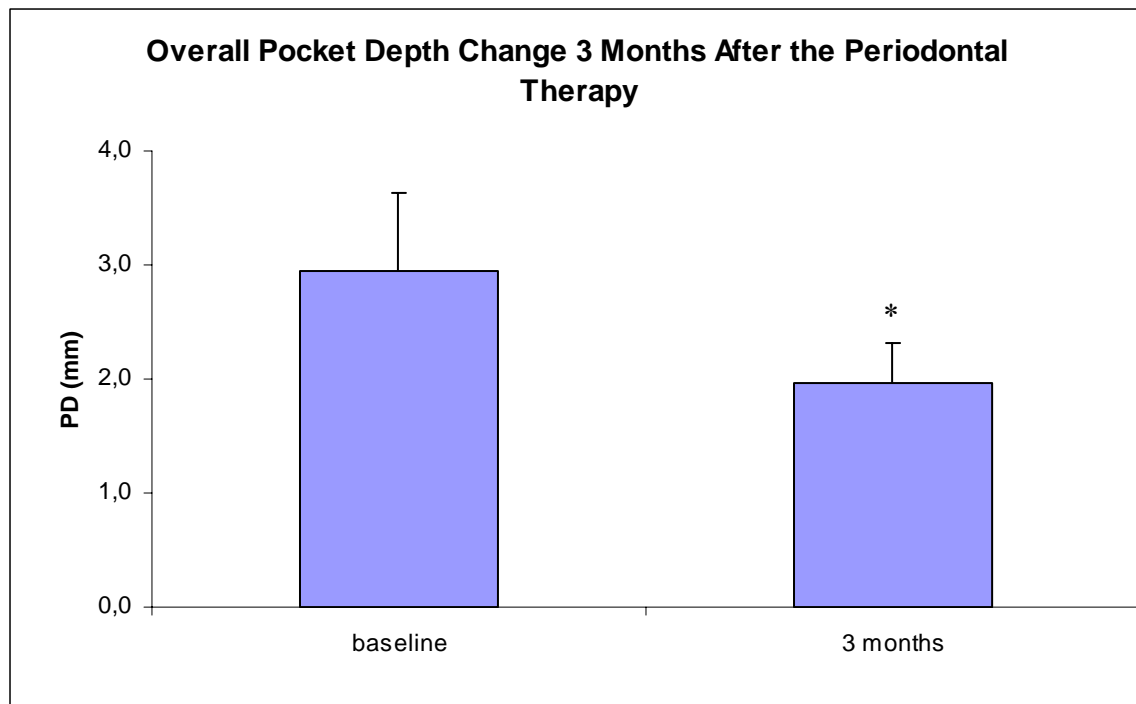
Values are shown as mean  $\pm$  SD

The mediators IL-2, IL-4, IL5, IL-7, IL-1 $\beta$ , IP-10, IL-9, IL-10, MIP-1 $\alpha$ , FGF, Eotaxin, GM-CSF, LT-  $\alpha$ , MCP-1, TNF  $\alpha$ , INF  $\gamma$  were assessed by the Wilcoxon signed ranks test  
Wilcoxon

The mediators IL-6, MIP 1-  $\beta$ , IL12 p70, Rantes, MIG were assessed by the Student t-test?

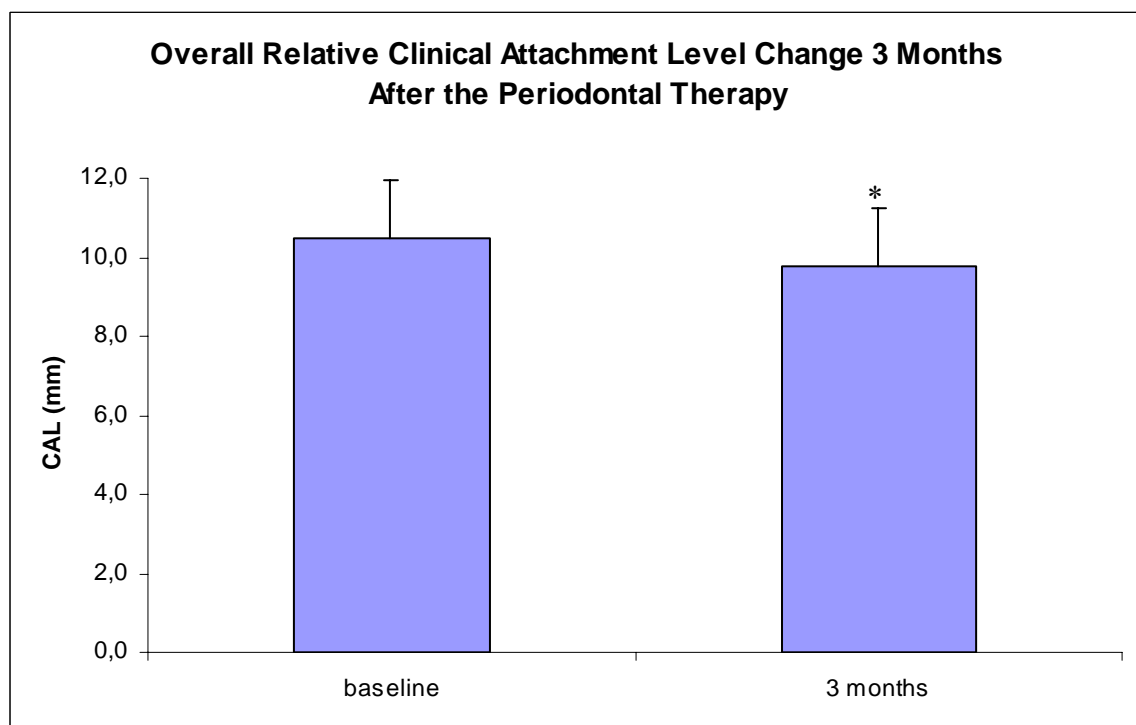
## **ILUSTRATIONS**

---



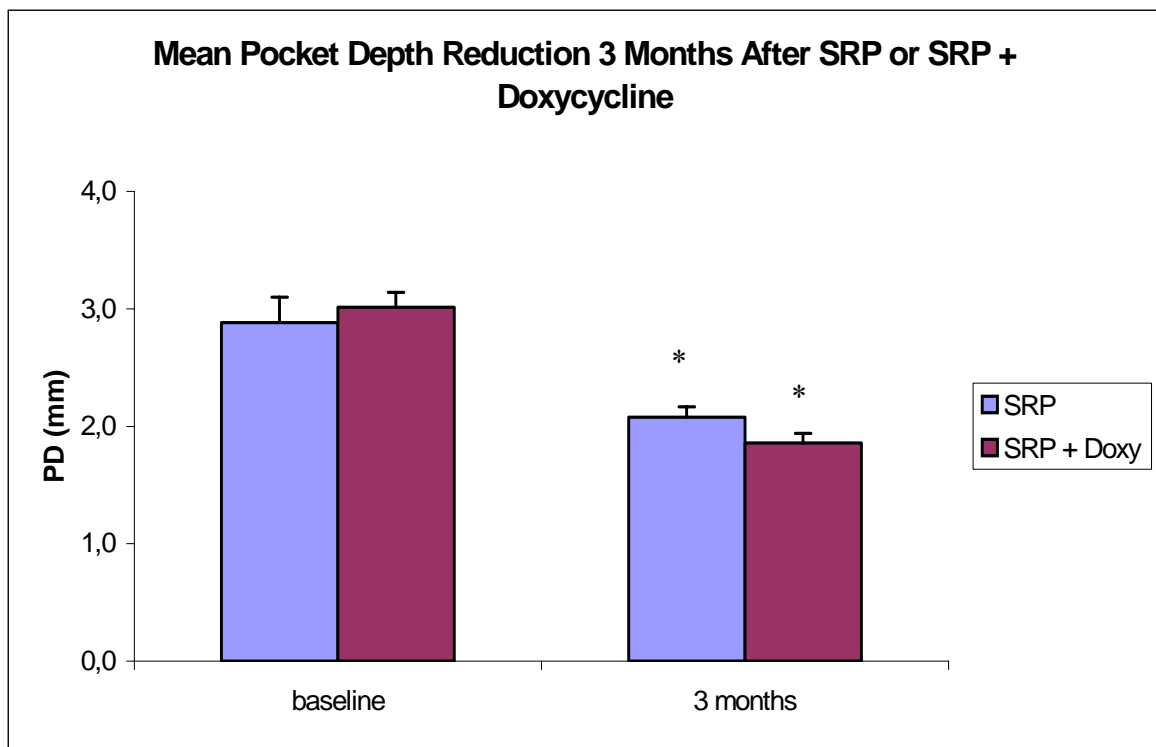
**Figure 1.**

\*Statistically significant difference



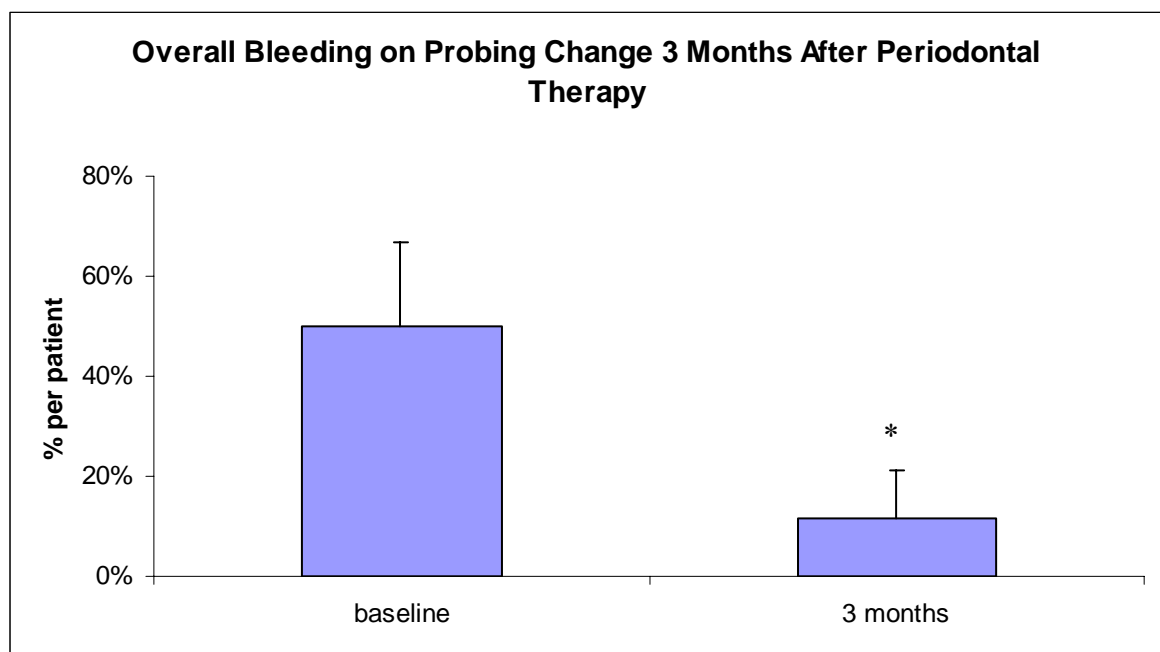
**Figure 2.**

\*Statistically significant difference



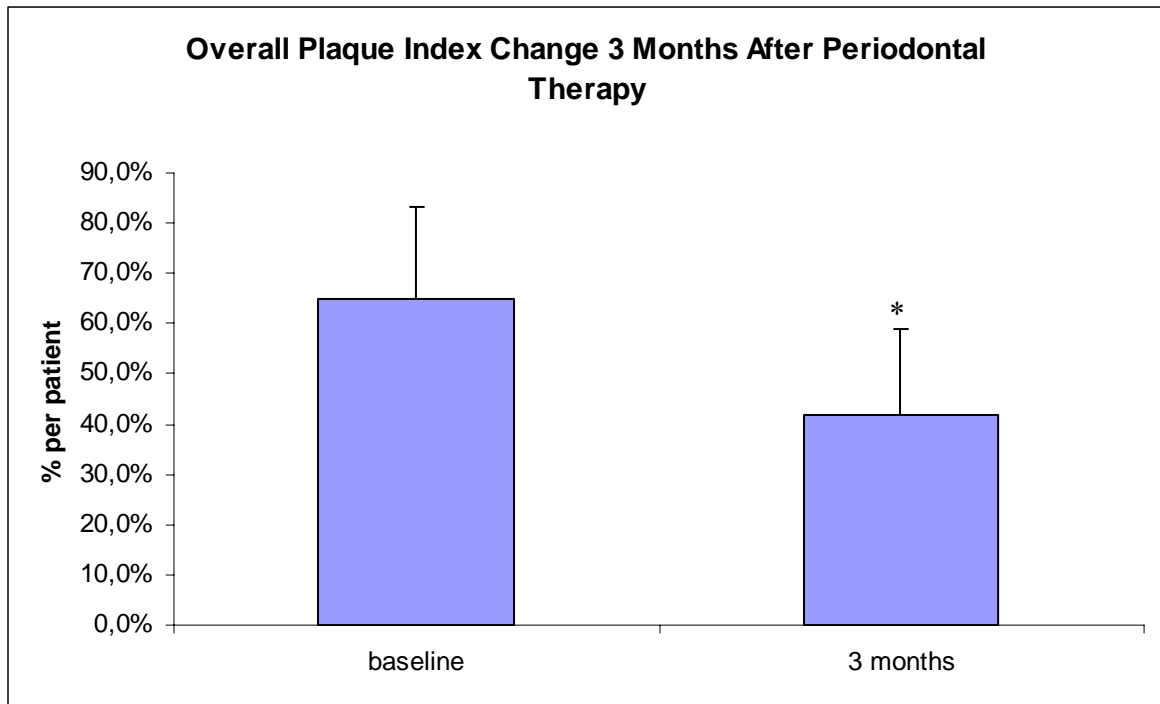
**Figure 3.**

\*Statistically significant differences



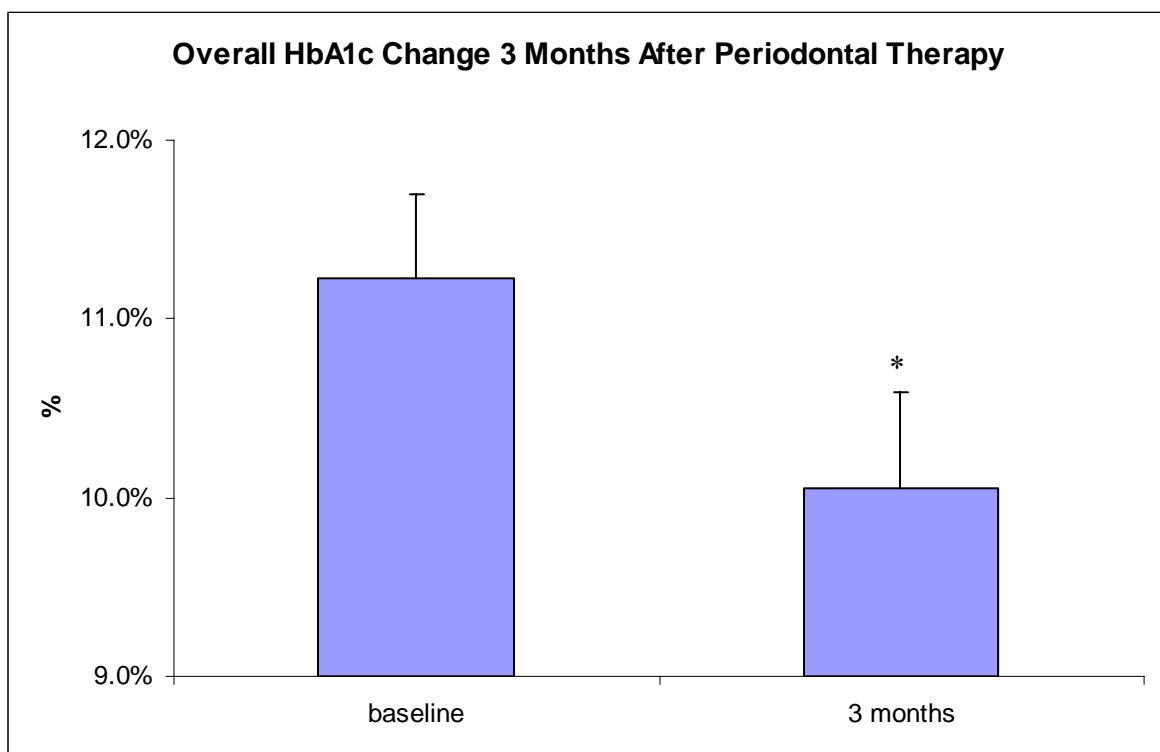
**Figure 4.**

\*Statistically significant difference



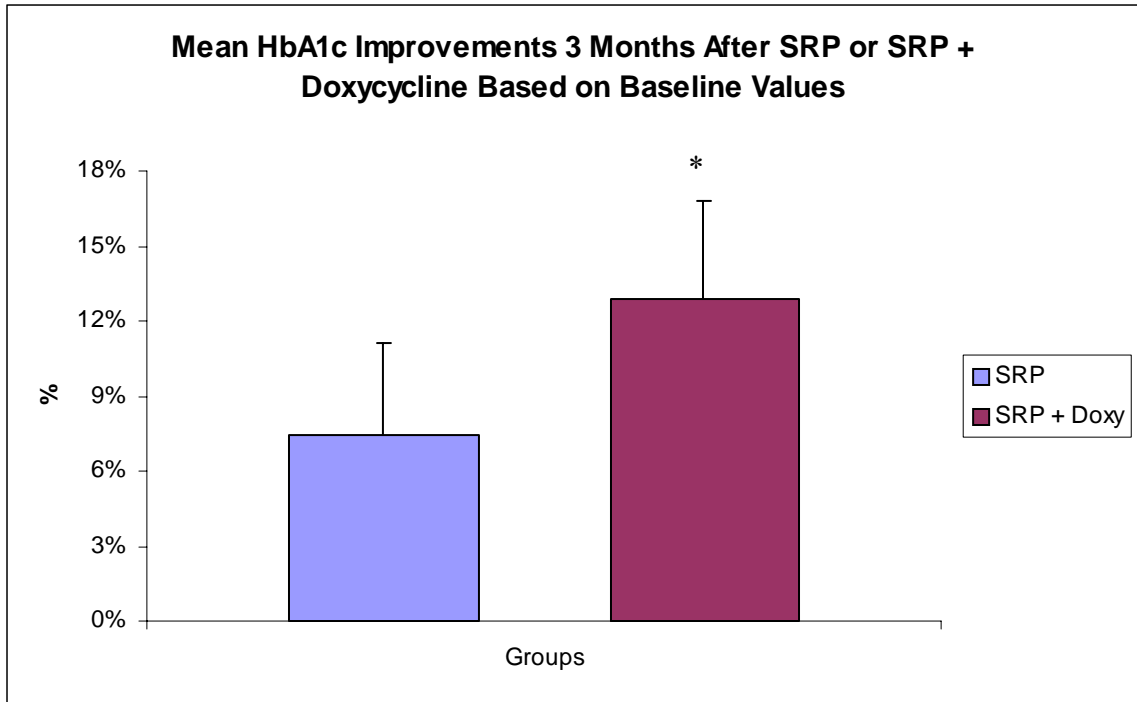
**Figure 5.**

\*Statistically significant difference

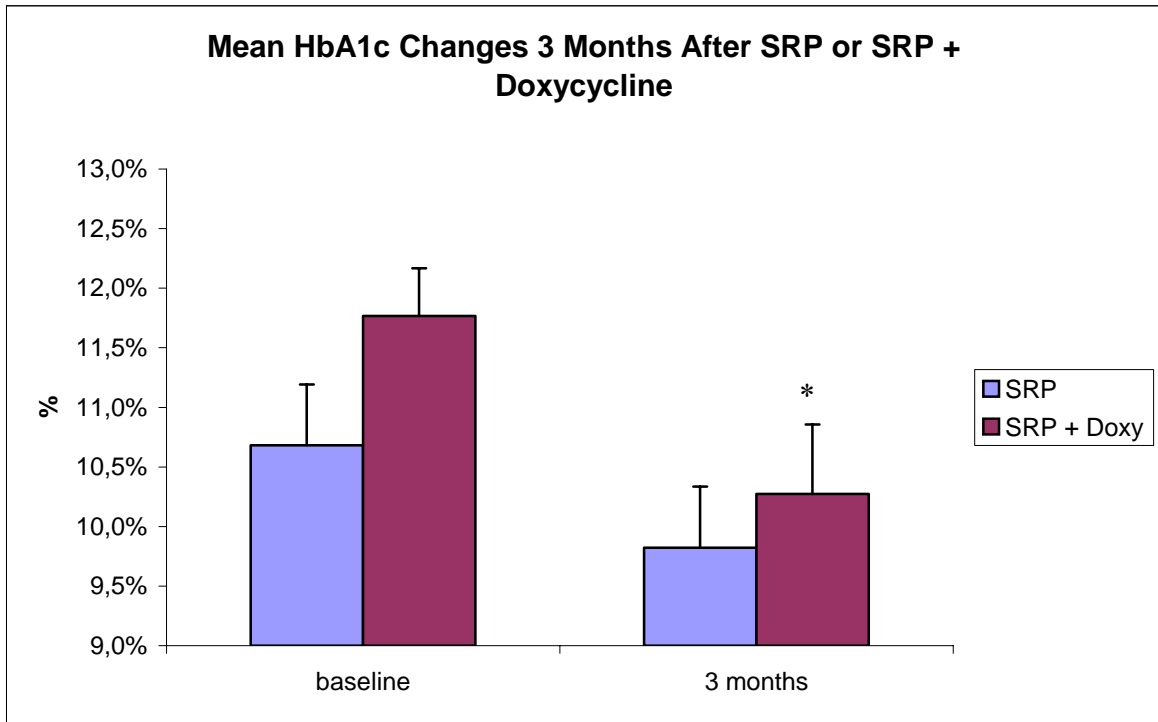


**Figure 6.**

\*Statistically significant difference



**Figure 7.**  
\*Statistically significant difference



**Figure 8.**  
\*Statistically significant difference

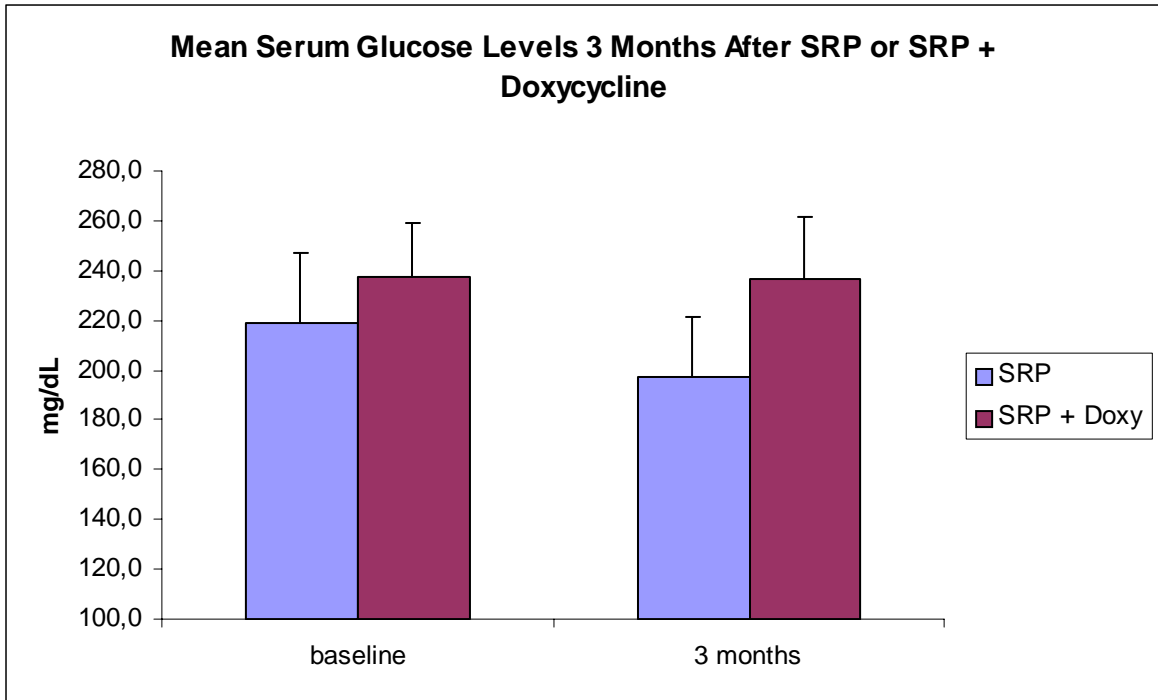
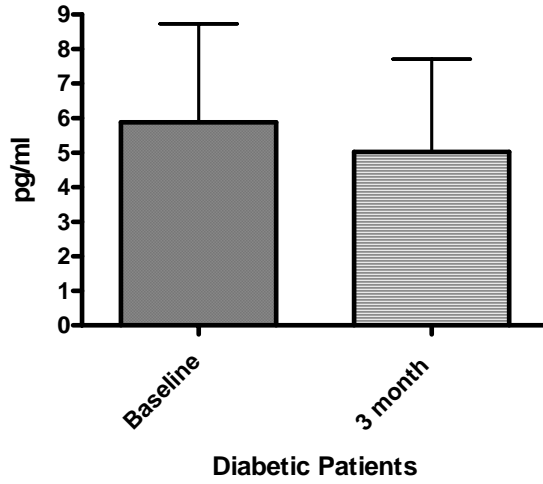


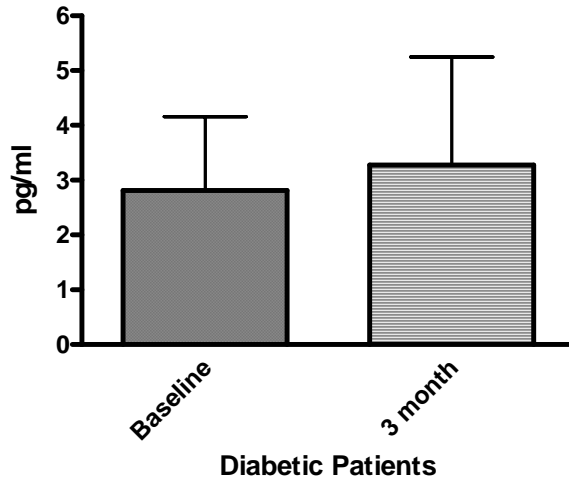
Figure 9.

### Citocinas Th1

Overall IL- 2 Change 3 Months After the Periodontal Therapy



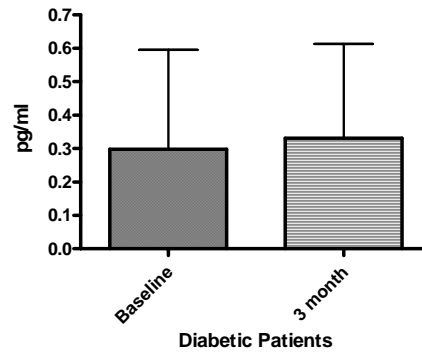
Overall IFN -  $\gamma$  Change 3 Months After the Periodontal Therapy



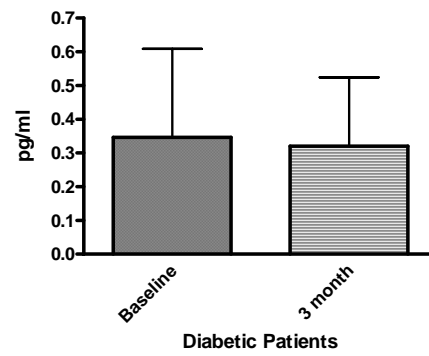


## Citocinas Pró-inflamatórias

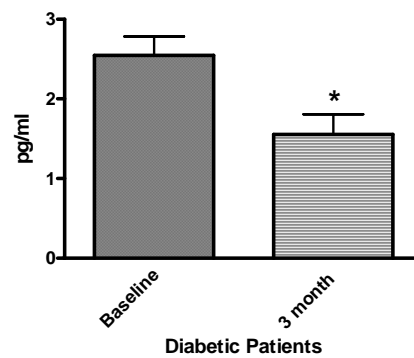
Overall IL-1 $\beta$  Change 3 Months After the Periodontal Therapy



Overall TNF -  $\alpha$  Change 3 Months After the Periodontal Therapy

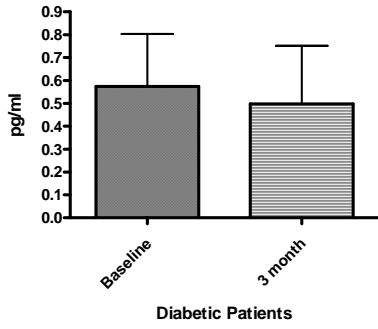


Overall IL-12p70 Change 3 Months After the Periodontal Therapy

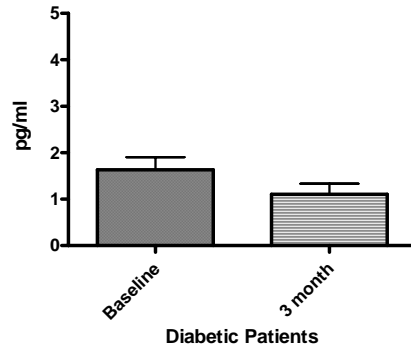


## Citocinas Th2

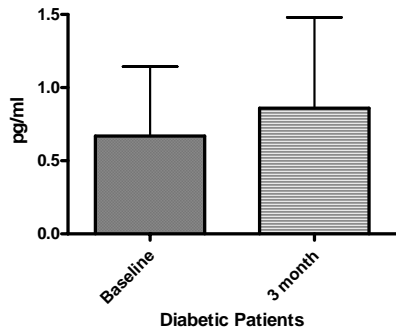
Overall IL- 4 Change 3 Months After the Periodontal Therapy



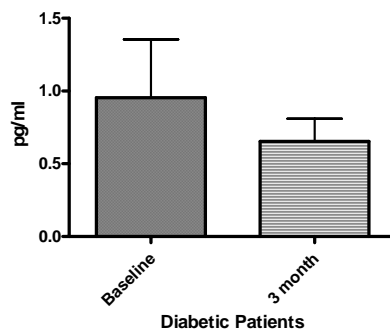
Overall IL- 5 Change 3 Months After the Periodontal Therapy



Overall IL-9 Change 3 Months After the Periodontal Therapy

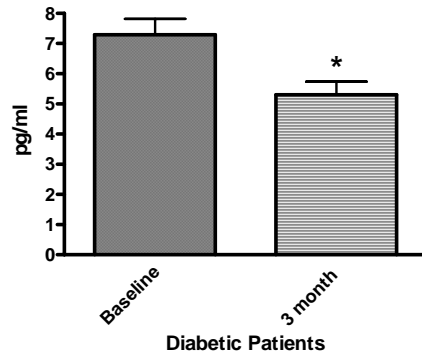


Overall IL-10 Change 3 Months After the Periodontal Therapy

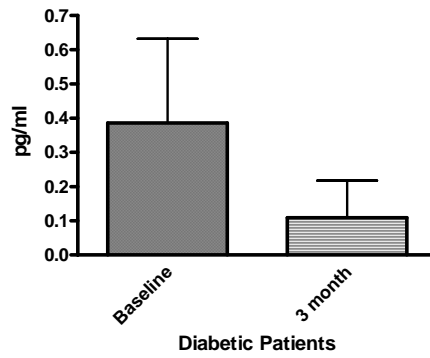


## Citocinas Hematopoiéticas

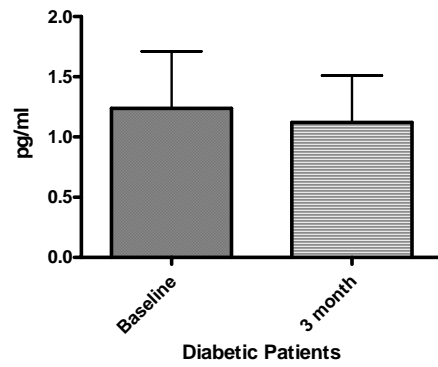
Overall G-CSF Change 3 Months After the Periodontal Therapy



Overall GM-CSF Change 3 Months After the Periodontal Therapy

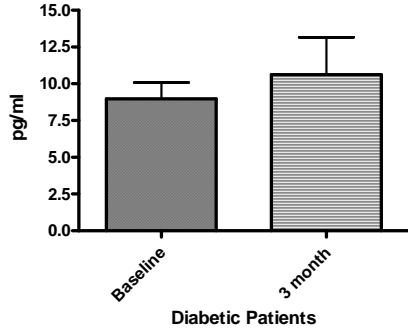


Overall IL-7 Change 3 Months After the Periodontal Therapy

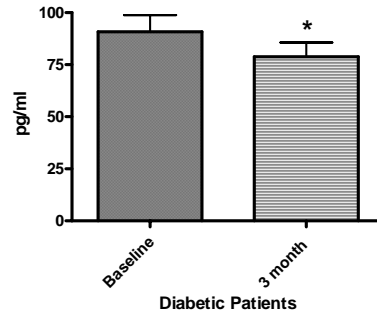


## Quimiocinas

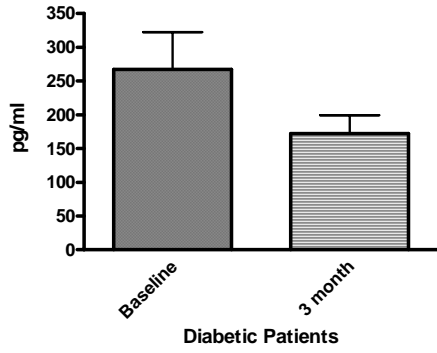
Overall IL-8 Change 3 Months After the Periodontal Therapy



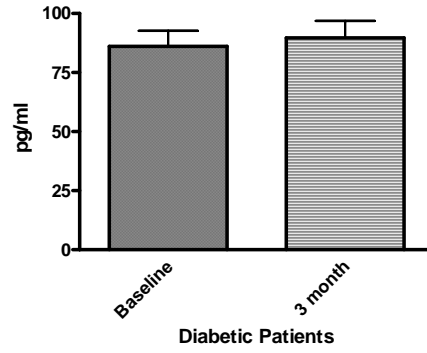
Overall IP-10 Change 3 Months After the Periodontal Therapy



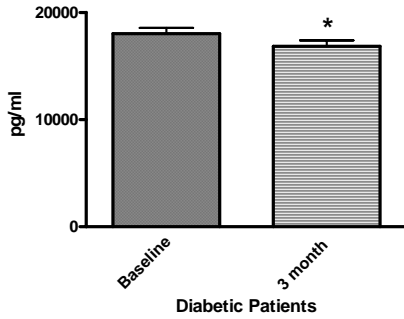
Overall MIG Change 3 Months After the Periodontal Therapy



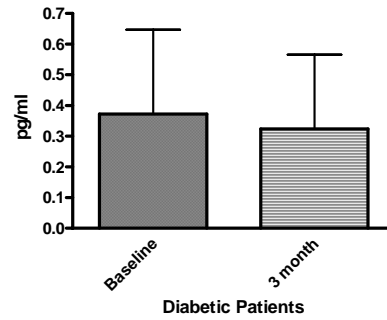
Overall Eotaxin Change 3 Months After the Periodontal Therapy



Overall Rantes Change 3 Months After the Periodontal Therapy

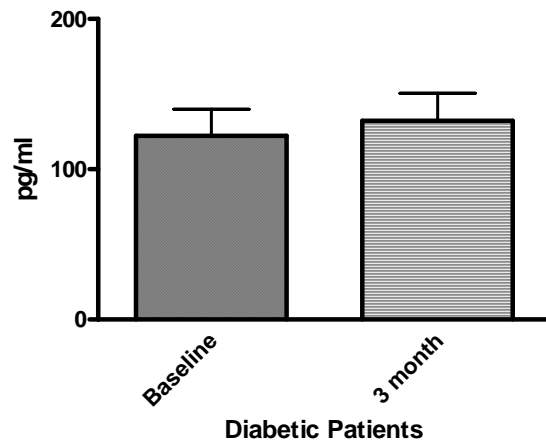


Overall Lymphotoxin- $\alpha$  Change 3 Months After the Periodontal Therapy

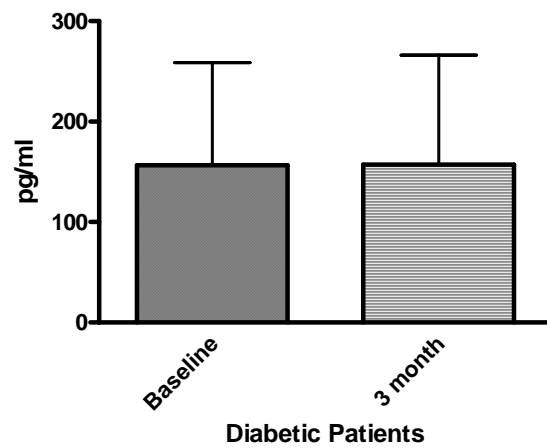


## Quimiocinas

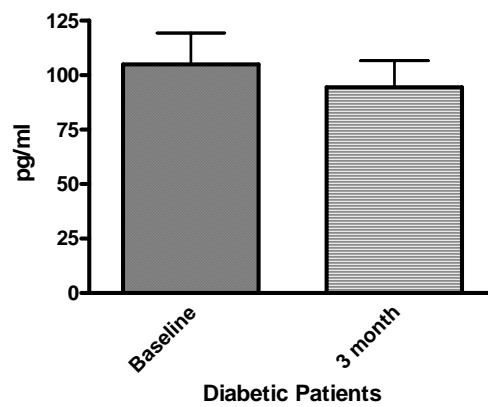
Overall MCP-1 Change 3 Months After the Periodontal Therapy



Overall MIP-1 $\alpha$  Change 3 Months After the Periodontal Therapy

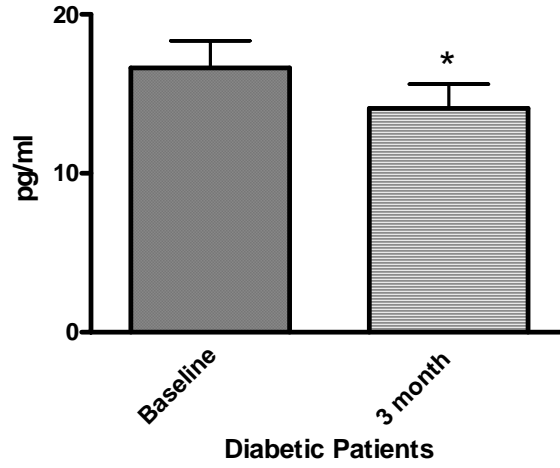


Overall MIP-1 $\beta$  Change 3 Months After the Periodontal Therapy

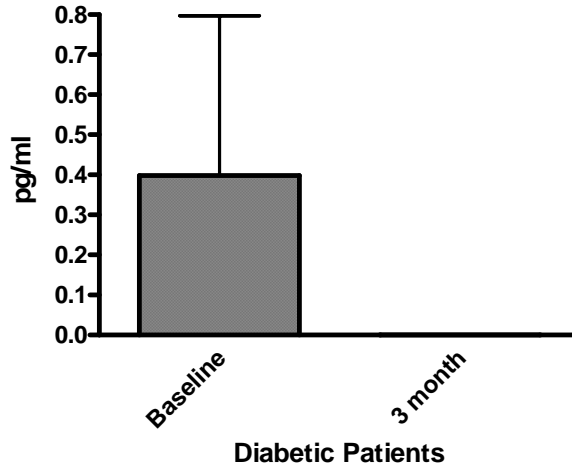


## Outros Fatores

Overall Fas Ligand Change 3 Months After the Periodontal Therapy



Overall Basic FGF Change 3 Months After the Periodontal Therapy



## PREPARO DAS AMOSTRAS ( SORO) E DA CURVA DE CALIBRAÇÃO



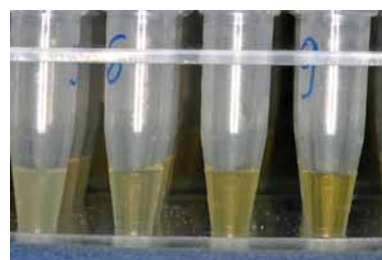
**Descongelamento das amostras –  
soro - homogeneização no vórtex**



**Centrifugação das amostras**



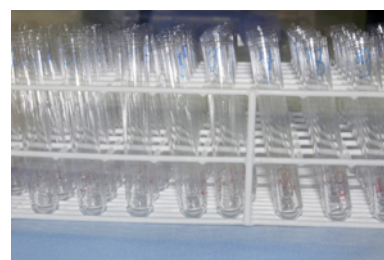
**Transferência do soro para  
novos eppendorfs**



**Soro límpido transferido para  
os respectivos eppendorfs**



**Visualização dos eppendorfs de  
cada paciente**



**Tubos de cada paciente com suas  
identificações numéricas**

## CURVA DE CALIBRAÇÃO

- Mistura de todas as proteínas liofilizadas em um tubo de 15 mL
- Reconstituição com 2mL de Assay Diluent preparando uma mistura TOP Standard
  - Incuba por 15 minutos à temperatura ambiente
  - O tubo Top Standard contém 2mL da mistura de todas as esferas
  - Diluição com Assay diluent nos tubos da curva
- Adição da solução do tubo TOP Standard nos tubos da curva até chegar no tubo 1:256



**Proteína liofilizada que foi utilizada no preparo da curva de calibração**



**Introdução de cada Proteína liofilizada em um único tubo**



**Todas as 24 Proteínas liofilizadas em um único tubo reconstituídas com 2mL de Assay Diluent**



**Assay Diluent**



**Assay Diluent**



**Top Standard reconstituído**



## PREPARO DAS BEADS DE CAPTURA



**Agito de todas as 24 beads de Captura no Vórtex**



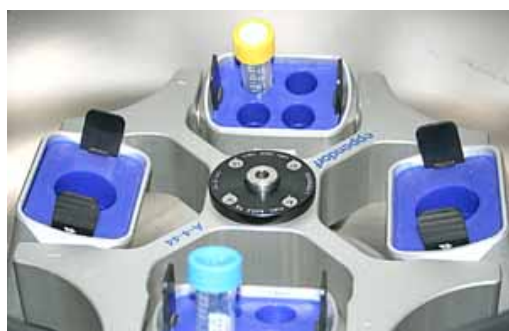
**Pipetagem de 100 $\mu$ L das beads de cada proteína para um único tubo**



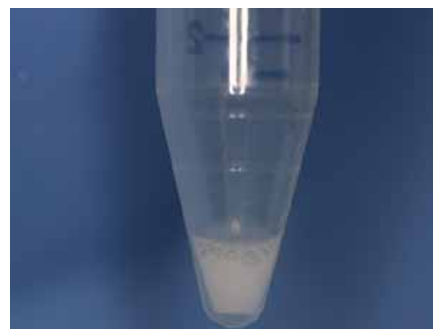
**Ressuspensão das beads em 500  $\mu$ L de Wash Buffer**



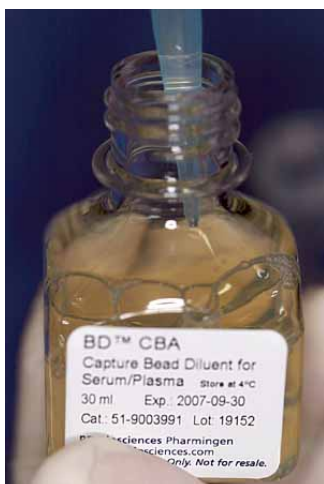
**Incubar por 15 minutos à temperatura ambiente no escuro**



**Centrifugação das beads de captura por 5 minutos 200G**



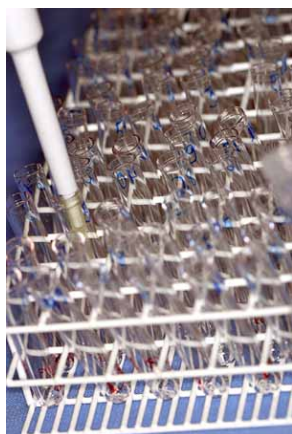
**Descarte do sobrenadante cuidadosamente através de inversão**



**Capture Beads Diluent**



**Ressuspensão das beads em 5 mL de Capture Beads Diluent e em seguida agitar a suspensão no vórtex**



**Adição de 50µL da suspensão de beads em cada tubo**



**Adição de 50µL de soro em seus respectivos tubos**

**Incubar por 1 hora em temperatura ambiente protegido da luz**

## PREPARO DO PE DETECTION



Adição de 100 $\mu$ L do PE detection de cada proteína em um único tubo



24 proteínas – 2.4 mL, completar com Detection Reagent Diluent para um Volume final de 5 mL



**Adição de 50 $\mu$ L da suspensão do PE detection nos tubos que já estão incubados há 1 hora com soro + as beads de captura. Adicionar também em todos os 10 tubos da curva**

- Incubar por duas horas em temperatura ambiente, protegido da luz



- Lavar 1 vez com 1 mL de wash buffer, 200g por 5 minutos

- Descartar cuidadosamente o sobrenadante

- Ressuspender o pellet em 300  $\mu$ L de wash buffer

- Aquisição no citômetro de fluxo

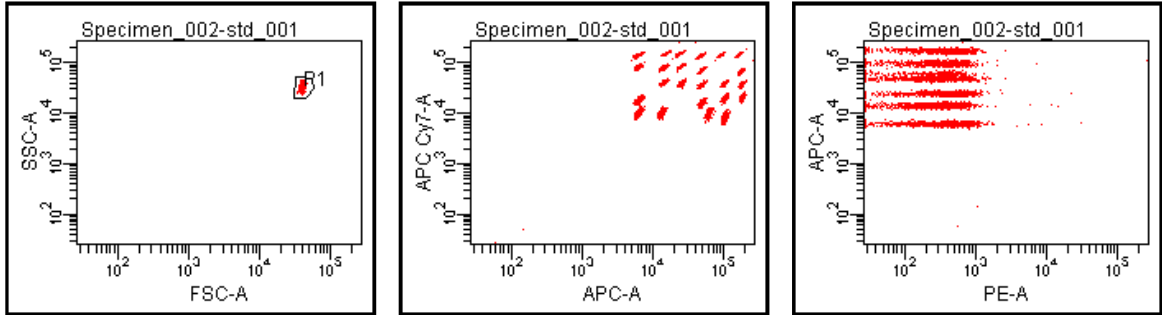
- Aquisição dos dados

- Análise no software FCAP Array



Análise do Software FCAP Array – Mediadores Inflamatórios

Pontos da Curva de Calibração

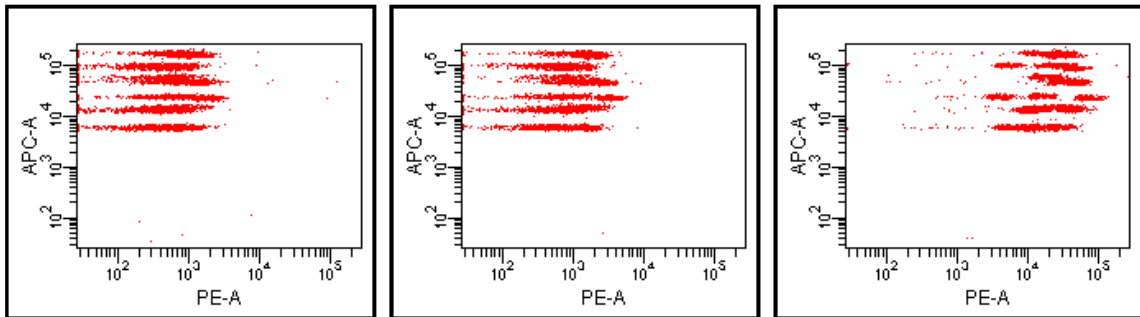


Tamanho/Complexidade interna

Posição das beads (24)

Intensidade de fluorescência

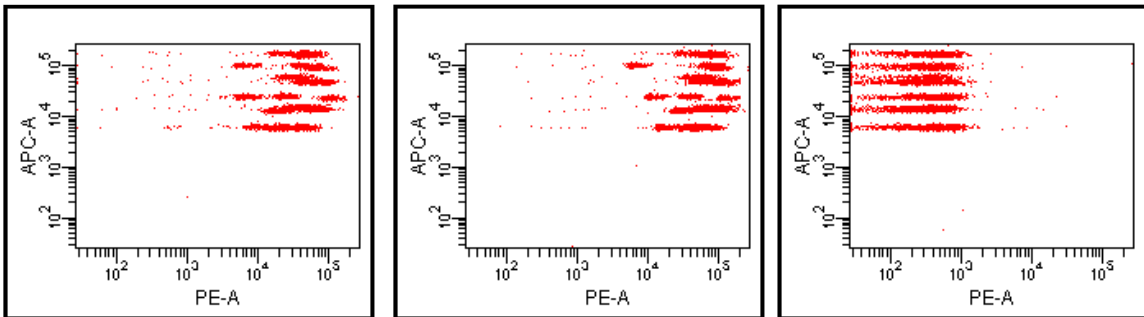
Diluição



1/256

1/128

1/4



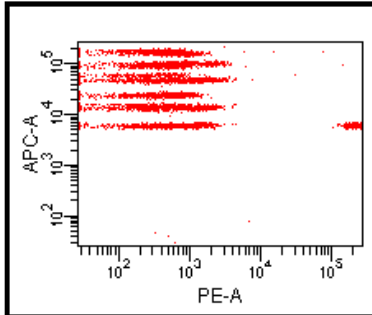
1/2

Top Standard

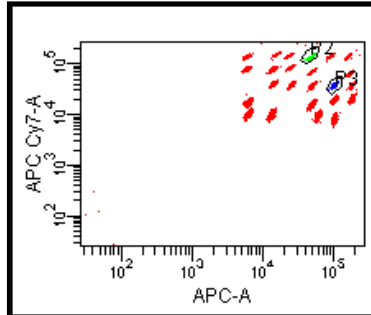
Branco

**Ilustração de mediadores Inflamatórios de um Paciente diabético (1) antes e após terapia periodontal**

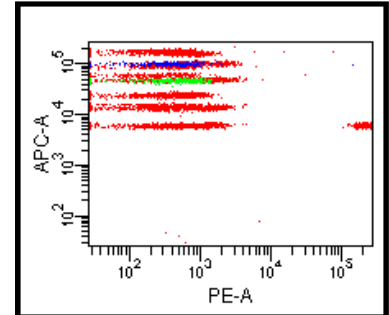
**Antes Tratamento**



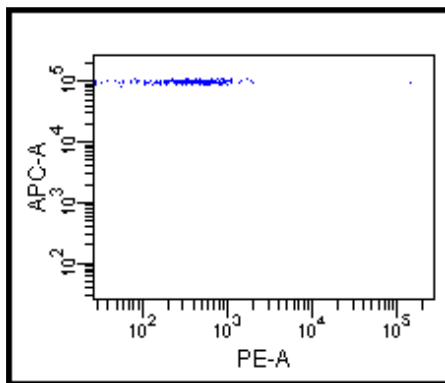
**Mediadores antes tratamento**



**Posição das beads para Paciente (1)**

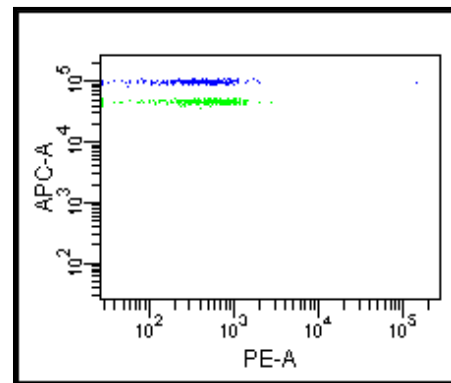


**Mediadores antes tratamento com destaque para IL-6: Verde G-CSF: Azul**



**Antes tratamento**

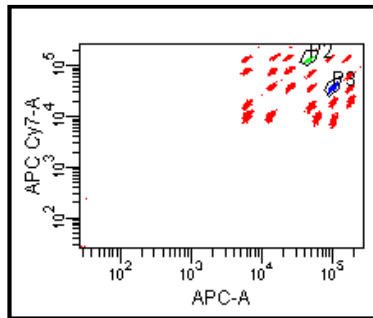
**G-CSF: Azul**



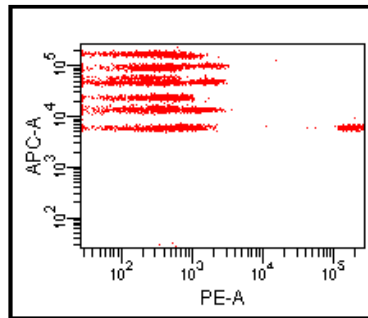
**Antes Tratamento**

**IL-6: Verde G-CSF: Azul**

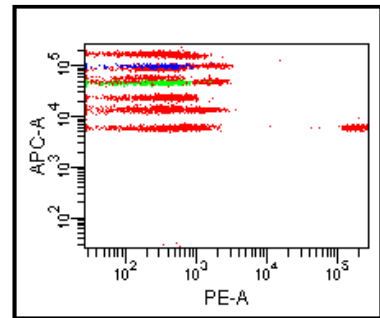
## Após tratamento



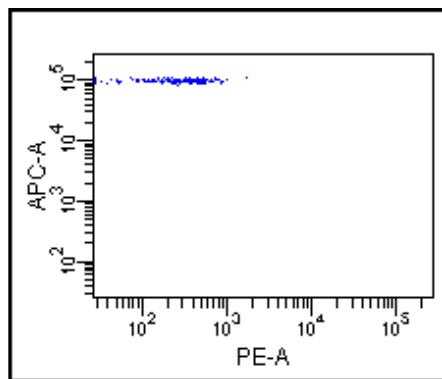
**Posição das beads para  
Paciente (1)**



**Mediadores após  
tratamento**

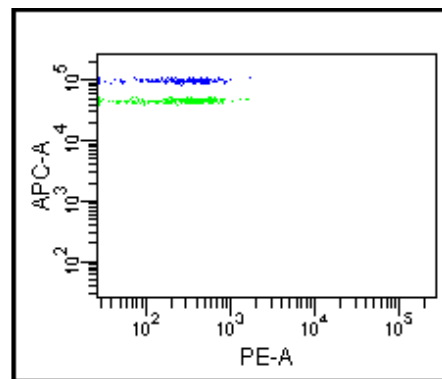


**Mediadores após tratamento  
com destaque para IL-6:  
Verde G-CSF: Azul**



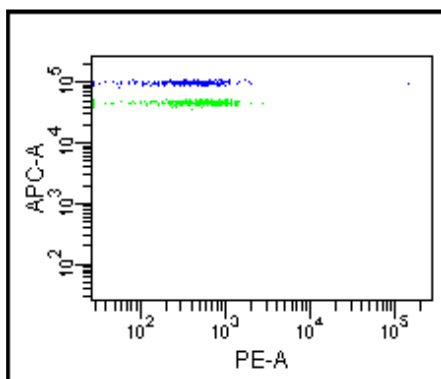
**Após Tratamento**

**G-CSF: Azul**



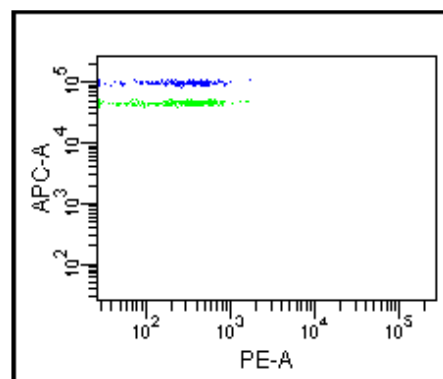
**Após Tratamento**

**IL-6: Verde G-CSF: Azul**



**Antes**

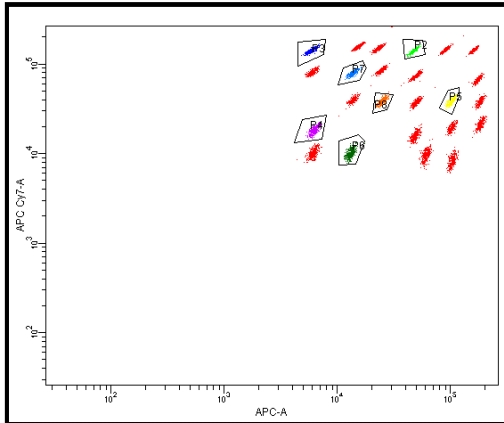
**IL-6: Verde G-CSF: Azul**



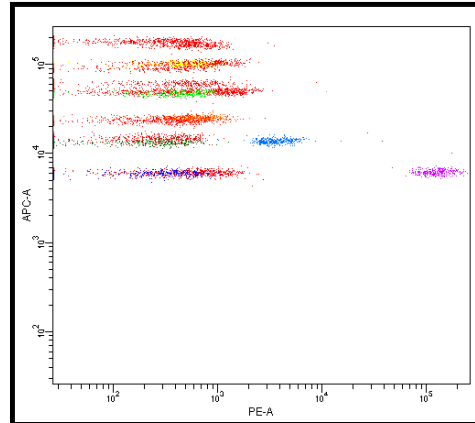
**Depois**

**IL-6: Verde G-CSF: Azul**

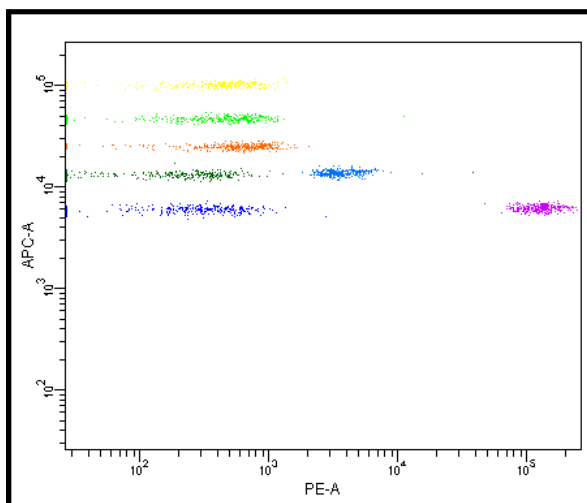
## Paciente 2



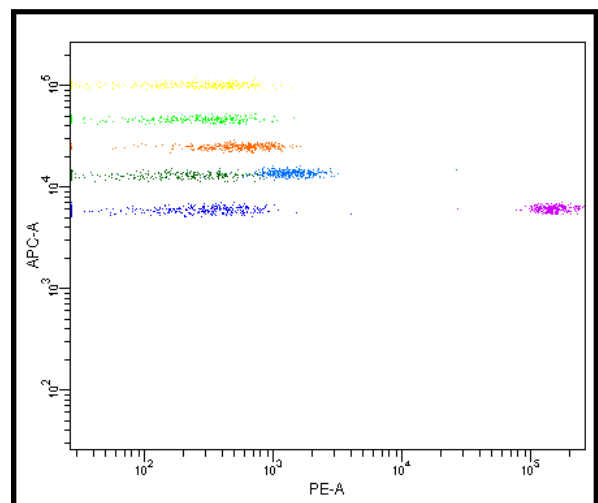
**Posição das beads para  
Paciente (2)**



**Todos mediadores antes  
tratamento**



**Mediadores antes tratamento**



**Mediadores após tratamento, para  
esses houve uma redução nos níveis  
séricos**

**IL6: Verde; IL2: Azul; Rantes: Roxo; G-CSF: Amarelo; IL-12(p70): Verde escuro; IP-10: Azul claro; Fas Ligand: Laranja**



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)