



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **MEDIADORES INFLAMATÓRIOS NA SALIVA: ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE E DOENÇA PERIODONTAL**

Trabalho submetido por  
**Ricardo Manuel Dias Cachinho**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**Setembro de 2014**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **MEDIADORES INFLAMATÓRIOS NA SALIVA: ASSOCIAÇÃO ENTRE OBESIDADE E DOENÇA PERIODONTAL**

Trabalho submetido por  
**Ricardo Manuel Dias Cachinho**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita**

e coorientado por  
**Doutora Ana Cristina Manso**

Setembro de 2014



## **Dedicatória**

Aos meus Pais,

Avós

e

Irmãos,

Companheiros e enriquecedores de todo o meu percurso, com quem poderei sempre contar e  
a quem tudo devo.



## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita, pela orientação, ajuda sempre presente e interesse no estudo realizado, procurando sempre contribuir para o enriquecimento do mesmo. Agradeço ainda os ensinamentos que fizeram com que este trabalho contribuísse para o meu desenvolvimento pessoal.

À Doutora Ana Cristina Manso, pela coorientação, dedicação, disponibilidade, empenho, apoio, paciência e motivação sempre incansáveis. Agradeço ainda a preciosa ajuda na calibragem dos procedimentos clínicos.

À Doutora Alexandra Bernardo e à Doutora Margarida Moncada, pelo auxílio nos procedimentos laboratoriais e interesse sempre demonstrado.

Ao Doutor Luis Proença, pelo tratamento estatístico dos dados do estudo.

À Mestre Leonor Silva, pelo auxílio na calibragem de procedimentos clínicos.

À Direção Clínica da Clínica Universitária Egas Moniz, por permitir a realização deste estudo, fornecendo os meios para que o mesmo fosse possível ser concretizado.

Aos professores da Clínica Universitária Egas Moniz dos diversos departamentos, por permitirem a recolha de dados e amostras dos doentes.

Aos doentes, por enriquecerem este estudo através da sua disponibilidade e paciência.

Ao Nelson Parreira, pela amizade ao longo destes anos e sabedoria partilhada, que me fizeram crescer a nível profissional e pessoal, tornando inesquecível a box 13. Ao André Gil, por tudo o que passámos neste trajeto académico e pela sua presença em todos os momentos. Ao Tiago Esteves, pela amizade desde os primeiros dias, pelo companheirismo e momentos partilhados. À Inês Guerra, pela preocupação constante, força e carinho sempre demonstrado ao longo destes anos. À Marta Ribeiro, pela cumplicidade especial neste último ano e precioso contributo na elaboração deste projeto final.

A todos os meus colegas de curso que me acompanharam e apoiaram ao longo dos últimos 5 anos e cuja motivação, preocupação e amizade foram cruciais para a elaboração deste trabalho de projeto final.



## **Resumo**

**Objetivo:** medir o fator de necrose tumoral-alfa e a interleucina-6, na saliva humana e verificar se existe associação concomitante entre os valores destes mediadores inflamatórios na Obesidade e Doença Periodontal, na população adulta da Clínica Universitária Egas Moniz.

**Materiais e métodos:** estudo observacional, analítico e transversal, efetuado numa amostra de conveniência de 40 indivíduos adultos. Foram selecionados 4 grupos: Grupo A (n=10) – doentes com obesidade e periodontite; Grupo B (n=10) – doentes com obesidade; Grupo C (n=10) – doentes com periodontite; Grupo D (n=10) – população saudável. Em cada grupo foram recolhidas amostras de saliva estimulada e não-estimulada, tendo sido medidos os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 na estimulada através do método ELISA. A condição clínica de doença periodontal foi aferida medindo o Índice Periodontal Comunitário e a Perda de Inserção Periodontal. A obesidade foi medida através do Índice de Massa Corporal através de medidas antropométricas e do Perímetro da Cintura. Utilizaram-se medidas de estatística descritiva e estatística inferencial com um nível de significância ( $\alpha$ )  $\leq 0,05$ . A análise estatística foi efetuada com o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 21 para Windows.

**Resultados:** Doentes com obesidade e periodontite apresentaram os valores de TNF- $\alpha$  mais elevados e os doentes do grupo controlo os valores mais baixos (26,53 vs 20,32), sendo que a diferença não foi estatisticamente significativa. Os valores de IL-6 obtidos foram mais elevados em doentes com periodontite e mais baixos nos doentes do grupo controlo (23,99 vs 14,22), não tendo a diferença sido estatisticamente significativa. Doentes com obesidade e periodontite apresentaram correlação significativa e negativa ( $p \leq 0,05$ ;  $r = -0,632$ ) entre os níveis de TNF- $\alpha$  e a idade, assim como os doentes com obesidade ( $p \leq 0,05$ ;  $r = -0,693$ ).

**Conclusões:** Os mediadores inflamatórios TNF- $\alpha$  e IL-6 não demonstraram ser marcadores específicos da obesidade e doença periodontal.

**Palavras-chave:** mediadores inflamatórios, saliva, obesidade, doença periodontal

## **Abstract**

**Aims:** measure the tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in human saliva and to investigate the association between concomitant values of these inflammatory mediators in Obesity and Periodontal Disease in the adult population of the University Clinic Egas Moniz.

**Materials and Methods:** observational, analytical and cross-sectional study was conducted on a convenience sample of 40 adults. Four groups were selected: Group A (n=10) – patients with obesity and periodontitis; Group B (n=10) – patients with obesity; Group C (n=10) – patients with periodontitis; Group D (n=10) – healthy population. In each group samples of stimulated and unstimulated saliva were collected and TNF- $\alpha$  and IL-6 levels were measured in the stimulated samples by the ELISA. The clinical condition of periodontal disease was assessed by measuring the Community Periodontal Index and the Insertion Loss Index. Obesity was measured by body mass index through anthropometric measurements and waist circumference. There were used measures of descriptive statistics and inferential statistics with a significance level ( $\alpha$ )  $\leq 0,05$ . Statistical analysis was performed with SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 21 for Windows.

**Results:** Patients with obesity and periodontitis had higher levels of TNF- $\alpha$  and control patients the lowest levels (26.53 vs 20.32), and the difference was not statistically significant. Levels of IL-6 obtained were higher in patients with periodontitis and lowest in control patients (23.99 vs 14.22), and the difference was not statistically significant. Patients with obesity and periodontitis showed significant and negative correlation ( $p \leq 0,05$ ;  $r = -0,632$ ) between the levels of TNF- $\alpha$  and age, as well as patients with obesity ( $p \leq 0,05$ ;  $r = -0,693$ ).

**Conclusions:** The inflammatory mediators TNF- $\alpha$  and IL-6 didn't prove to be specific markers of obesity and periodontal disease.

**Keywords:** inflammatory mediators, saliva, obesity, periodontal disease

## Índice Geral

I – Introdução.....	15
1. Enquadramento teórico.....	15
2. Hipóteses .....	22
II – Materiais e métodos .....	23
1. Considerações éticas.....	23
2. Tipo de estudo .....	23
3. Local do estudo.....	23
4. Estudo clínico .....	23
4.1. Seleção da amostra .....	23
4.2. Critérios de inclusão.....	25
4.3. Critérios de exclusão .....	25
4.4. Estudo das variáveis (em todos os grupos) .....	27
4.5. Observação clínica .....	28
4.5.1. Calibragem dos examinadores para o IMC, Perímetro da cintura, CPI e PIP .....	28
4.5.2. Índice de Massa Corporal (em todos os grupos) .....	28
4.5.3. Perímetro da cintura (em todos os grupos).....	30
4.5.4. Determinação da taxa de fluxo salivar não-estimulado (em todos os grupos).....	30
4.5.5. Determinação do Índice Periodontal Comunitário – IPC (em todos os grupos).....	31
4.5.6. Determinação da Perda de Inserção Clínica – PIP (em todos os grupos)..	32
5. Conservação das amostras de saliva estimulada recolhidas .....	33
6. Identificação das amostras.....	33
7. Estudo laboratorial.....	34
7.1. Medição dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 nas amostras recolhidas de saliva estimulada.....	34
8. Base de dados para o registo.....	35
9. Análise estatística .....	35
III – Resultados.....	37
1 – Caraterização da amostra .....	37
1.1. Caracterização dos 4 grupos que compunham a amostra.....	37
1.2. Género .....	37
1.3. Idade .....	38

1.4.	Altura, peso, IMC, perímetro da cintura, TNF- $\alpha$ e IL-6 .....	39
1.5.	Índice Periodontal Comunitário .....	40
1.6.	Perda de inserção periodontal .....	41
1.7.	Taxa de fluxo salivar não-estimulado .....	41
2.	Comparação dos níveis de TNF- $\alpha$ nos 4 grupos da amostra .....	41
3.	Comparação dos níveis de IL-6 nos 4 grupos da amostra .....	42
4.	Correlação das variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade.....	43
4.1.	Grupo A (obesidade e periodontite) .....	43
4.2.	Grupo B (Obesidade) .....	45
4.3.	Grupo C (Doença periodontal).....	46
4.4.	Grupo D (Controlo).....	47
5.	Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 e o género.....	49
5.1.	Grupo A (obesidade e periodontite) .....	49
5.2.	Grupo B (obesidade) .....	49
5.3.	Grupo C (Periodontite).....	50
5.4.	Grupo D (controlo).....	50
IV –	Discussão.....	53
V –	Conclusões .....	61
VI –	Bibliografia.....	63
VII –	Anexos .....	73

## Índice de Figuras

Figura 1 – Esquema simplificado da inflamação do tecido adiposo branco na obesidade e o seu efeito.....	17
Figura 2 – Gráfico de frequências relativas do género.....	37
Figura 3 – Diagrama de extremos e quartis relativos aos níveis de TNF- $\alpha$ .....	40
Figura 4 – Diagrama de extremos e quartis relativos aos níveis de IL-6.....	40
Figura 5 – Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$ nos 4 grupos da amostra.....	42
Figura 6 – Gráfico representativo dos níveis de IL-6 nos 4 grupos da amostra.....	43
Figura 7 – Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 consoante o género no grupo A.....	49
Figura 8 – Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 consoante o género no grupo B.....	50
Figura 9 – Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 consoante o género no grupo C.....	50
Figura 10 – Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 consoante o género no grupo D.....	51

## Índice de Tabelas

Tabela 1: Classificação segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) do IMC.....	24
Tabela 2: Classificação segundo a OMS do Perímetro da Cintura.....	24
Tabela 3: Dentes índice avaliados no IPC e PIP para adultos (35-44 anos) e (65-74 anos).....	31
Tabela 4: Codificação do índice PIP.....	33
Tabela 5: Tabela de frequências absolutas e relativas da constituição de cada grupo da amostra.....	37
Tabela 6: Género dos indivíduos que participaram no estudo clínico.....	37
Tabela 7: Idade dos indivíduos participantes no estudo.....	38
Tabela 8: Estatística descritiva da altura, peso, IMC, perímetro da cintura, TNF- $\alpha$ e IL-6 da amostra.....	39
Tabela 9: Tabela de frequências absolutas e relativas do IPC.....	40
Tabela 10: Tabela de frequências absolutas e relativas do índice PIP.....	41
Tabela 11: Taxa de fluxo salivar não-estimulado.....	41
Tabela 12: Associação dos níveis de TNF- $\alpha$ nos 4 grupos da amostra.....	42
Tabela 13: Associação dos níveis de IL-6 nos 4 grupos da amostra.....	42
Tabela 14: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo A.....	43
Tabela 15: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo B.....	45
Tabela 16: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo C.....	46
Tabela 17: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo D.....	47
Tabela 18: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 e o género no grupo A.....	49
Tabela 19: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 e o género no grupo B.....	49
Tabela 20: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 e o género no grupo C.....	50
Tabela 21: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 e o género no grupo D.....	50

## **Lista de abreviaturas**

PCR – Proteína C-reativa

ELISA – *Enzyme linked Immuno-Sorbent Assay*

EGOHID – *European Global Oral Health Indicators Development*

IL-6 – Interleucina-6

IMC – Índice Massa Corporal

IPC – Índice Periodontal Comunitário

MMP-8 – Metaloproteinase-8

MMP-9 – Metaloproteinase-9

OMS – Organização Mundial de Saúde

PIP – Perda de Inserção Periodontal

TAB – Tecido Adiposo Branco

TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral-alfa



## I – Introdução

### 1. Enquadramento teórico

Este trabalho de projeto final procura focar a possível associação existente entre duas doenças inflamatórias: a obesidade e a doença periodontal. Pensa-se que esta associação possa ocorrer por mecanismos inflamatórios, havendo nestas duas patologias aumento dos níveis de mediadores inflamatórios, que podem ser medidos através da análise imunológica de fluidos corporais como a saliva. Os mediadores que serão estudados neste projeto final serão a Interleucina-6 (IL-6) e o Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), dado que existem estudos referindo que os níveis destas duas citocinas encontram-se aumentados tanto na obesidade como na doença periodontal.

Os mediadores inflamatórios são proteínas da fase aguda da inflamação que têm sido estudadas como apresentando uma possível relação entre excesso de peso, de tecido adiposo, obesidade e aumento do risco de doenças cardiovasculares, nomeadamente, no que se refere à proteína C-reativa (PCR) e fibrinogénio (Veigas L, Pereira P, Vicente F & Mesquita M, 2012).

A obesidade é uma doença que se caracteriza pela presença de uma disfunção a nível imunológico, acompanhada por uma diminuição da resposta cicatricial e aumento da taxa de infeções (Martí, Marcos & Martínez, 2001). O tecido adiposo tem diversas funções que fazem com que a obesidade represente um processo inflamatório a nível sistémico (Veigas L *et al.*, 2012), não sendo apenas um tecido de armazenamento de energia, podendo também ser considerado um órgão endócrino (Martí *et al.*, 2001) constituído por células secretoras endócrinas, os adipócitos (Fonseca-Alaniz, Takada, Alonso-Vale & Lima, 2007). Existem evidências que demonstram que o estado inflamatório referido pode-se dever à resistência à ação da insulina e outros distúrbios associados à obesidade, como a hiperlipidémia e a síndrome metabólica (Prado, Lofrano, Oyama, Dâmaso, 2009), podendo-se inferir que o possível elo entre esta síndrome e a inflamação é a resistência insulínica (Volp *et al.*, 2008).

O tecido adiposo é considerado heterogéneo, dado que é composto por vários tipos de células, incluindo pré-adipócitos, adipócitos, células endoteliais, fibroblastos e macrófagos (Balistreri, Caruso & Candore, 2010; Weiss, Seljeflot, Hjerkin & Arnesen,

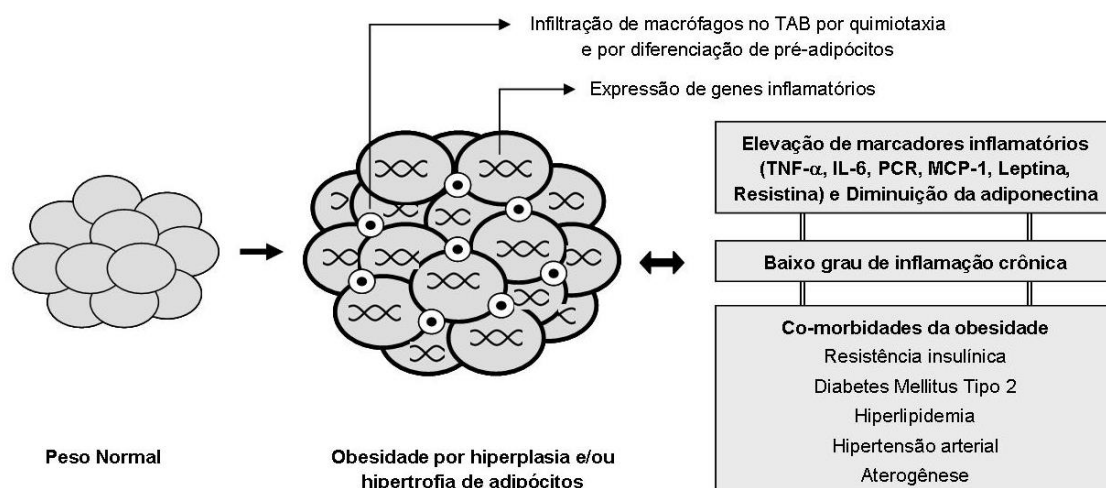
2011). Pensa-se que o processo inflamatório dá-se não só nos adipócitos, como também nas células reticuloendoteliais presentes no tecido adiposo e nos precursores dos adipócitos (Wellen & Hotamisligil, 2003).

Este tecido é ainda responsável pela produção e libertação de várias adipocinas e citocinas (anti e pró-inflamatórias), que incluem a leptina, adiponectina, resistina e vistafina, assim como a Interleucina-4, Interferão-gama, TNF- $\alpha$  e IL-6 (Lee H, Lee, & Choue, 2013), que se encontram envolvidas na modulação das respostas a nível imunitário, inflamatório (Y. H. Lee & Pratley, 2005) e participam na proteção do perfil metabólico (Karelis *et al.*, 2005). Para além disso, as células do tecido adiposo ou adipócitos gerem a disponibilidade de lípidos e a secreção de hormonas (adipocinas) (Zhu & Nikolajczyk, 2014), tendo como exemplo a adiponectina, que apresenta propriedades anti-inflamatórias (Cancello & Clément, 2006). Esta hormona medeia os efeitos biológicos do metabolismo e inflamação, contribuindo desta forma para a manutenção da homeostase energética (Balistreri *et al.*, 2010). Os macrófagos do tecido adiposo encontram-se adjacentes aos adipócitos e exibem um fenótipo anti-inflamatório que mantém um estado de não inflamação em indivíduos magros e obesos metabolicamente saudáveis (Chawla, Nguyen & Goh, 2012; Denis & Obin, 2014), participando ainda na angiogénese que ocorre na expansão do tecido adiposo, regulando a expansão local de massa gorda (Cancello & Clément, 2006).

Alguns autores referem que existem correlações significativas entre o aumento de tecido adiposo e os altos níveis de algumas proteínas na fase aguda do processo inflamatório como a proteína C-reativa e o fibrinogénio (Berg & Scherer, 2005; Nguyen, Lane, Smith & Nguyen, 2009). Acredita-se que a obesidade abdominal é um marcador da existência da síndrome metabólica X (obesidade, resistência à insulina, diabetes tipo II, hipertensão e hiperlipidémia). É possível que o aumento da produção local de corticoesterona pelo tecido adiposo abdominal se deva ao aumento da produção de TNF- $\alpha$  e IL-6, que induz uma maior deposição de tecido adiposo a nível abdominal (Ramos *et al.*, 2003).

Ao nível dos adipócitos, na obesidade, existe infiltração de macrófagos no tecido adiposo branco (TAB) por quimiotaxia e diferenciação de pré-adipócitos, havendo expressão de genes inflamatórios que levam a um aumento da produção de vários marcadores inflamatórios e diminuição da adiponectina (ver Figura 1).

Figura 1: Esquema simplificado da inflamação do TAB na obesidade e o seu efeito (Leite, 2009)



Os marcadores inflamatórios na obesidade podem originar-se de três formas: a primeira a partir de órgãos que não o tecido adiposo (principalmente o fígado e células imunes), a segunda através de fatores segregados pelo TAB que têm como função estimular a produção de marcadores inflamatórios pelo fígado e outros órgãos e a terceira hipótese deriva do facto de os próprios adipócitos serem uma fonte imediata de alguns, ou muitos, desses marcadores inflamatórios (Prado *et al.*, 2009).

O tecido adiposo secreta grandes quantidades de TNF- $\alpha$ , IL-6 (Bastos, Falcão, Pereira, Pereira, Alves, 2005) e Interleucina-8 (Clément *et al.*, 2004), sendo que os níveis dessas citocinas pró-inflamatórias são proporcionais ao Índice de Massa Corporal (IMC), em particular em indivíduos com obesidade visceral (Bastos *et al.*, 2005). No entanto, a obesidade é considerada um estado de inflamação sistémica, como já foi referido, mas de baixo grau, dado que marcadores inflamatórios como a PCR e a IL-6 estão aumentados em indivíduos obesos em comparação com os indivíduos que não o são, embora numa extensão menor relativamente a condições inflamatórias clássicas (Fantuzzi, 2005).

Relativamente à PCR em específico, tem-se encontrado uma correlação positiva entre esta proteína e o aumento do IMC (Das, 2001), sendo que os seus níveis triplicam na presença de doenças vasculares periféricas (Volp *et al.*, 2008) e também tem sido associada ao desenvolvimento de diabetes (Brasil, Norton, Rossetti, Leão, & Mendes, 2007). Este aumento da produção hepática da PCR deve-se a uma maior produção de TNF- $\alpha$  e IL-6 (Y.-H. Lee & Pratley, 2005).

Um dos mediadores inflamatórios que será analisado neste estudo, o TNF- $\alpha$ , é considerado uma citocina pró-inflamatória que representa um produto dos macrófagos relacionado com distúrbios metabólicos e processos crônicos da inflamação. Esta citocina encontra-se aumentada na obesidade, diminuindo com a perda de peso corporal, melhorando assim a sensibilidade à insulina (Guimarães *et al.*, 2007), relacionando-se com a anorexia e a perda de peso (Y.-H. Lee & Pratley, 2005). Apesar do TNF- $\alpha$  ter pouca expressão no TAB a sua produção está modificada no TAB de doentes com obesidade (Leite *et al.*, 2009).

É considerada uma citocina multifuncional, dado que se encontra implicada em processos como a inflamação, apoptose, citotoxicidade e produção de outras citocinas, como por exemplo, a IL-1 e a IL-6 (Fonseca-Alaniz *et al.*, 2007). Existem indícios de que o aumento da expressão génica de TNF- $\alpha$  no tecido adiposo bem como a sua elevada concentração plasmática poderiam induzir a obesidade, em parte, por alterar a libertação na circulação de outras adipocitocinas, como o inibidor do plasminogénio-I e a adiponectina (Guimarães *et al.*, 2007).

Tem sido observada uma correlação positiva entre os níveis de RNA mensageiro do TNF- $\alpha$  no tecido adiposo subcutâneo e insulinémia em mulheres e obesos com resistência à insulina, que têm por sua vez secreção aumentada de TNF- $\alpha$  (Fonseca-Alaniz *et al.*, 2007).

A outra citocina cujos níveis serão analisados neste estudo é a IL-6, sendo também considerada uma citocina multifuncional, que apresenta atividades biológicas, incluindo a diferenciação de linfócitos-B, a proliferação de linfócitos-T e a estimulação da secreção de imunoglobulinas por linfócitos-B (Noh *et al.*, 2013).

O tecido adiposo apresenta uma relação de extrema importância com a IL-6, dado que contribui em cerca de 25% na produção da mesma que se encontra em circulação (Visser, Mcquillan, Wener & Harris, 1999). O TAB visceral produz IL-6 em maior quantidade comparativamente ao TAB subcutâneo (Fantuzzi, 2005).

O conteúdo plasmático de IL-6 apresenta-se positivamente correlacionado com o aumento da massa corporal e, inversamente, à sensibilidade à insulina (Guimarães *et al.*, 2007).

Por sua vez, a doença periodontal apresenta, tal como a obesidade, uma componente inflamatória, tendo uma relação direta com a variação dos níveis de vários mediadores inflamatórios a nível sistémico. Exemplo disso são os indivíduos magros, em que a doença periodontal é caracterizada por várias mudanças na imunidade gengival inata (Zhu & Nikolajczyk, 2014). As células epiteliais gengivais e os fibroblastos, componentes dos tecidos periodontais, respondem ao patogéneo LPS pela expressão transitória de citocinas como o TNF- $\alpha$  e a Interleucina 1-beta. Deste modo, estas células parecem ter um papel ativo na iniciação e manutenção da inflamação gengival (Zhu & Nikolajczyk, 2014).

Como resposta a agentes microbianos, mediadores inflamatórios derivados do hospedeiro, como as interleuquinas, enzimas proteolíticas e as metaloproteinases da matriz são produzidas e ativadas na doença periodontal (Salminen *et al.*, 2014). Entre as diversas citocinas inflamatórias temos a IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  que são libertadas pelos fibroblastos, macrófagos, tecido conjuntivo e células do epitélio juncional (Kinney *et al.*, 2011a). Estes mediadores, podem afetar as atividades dos leucócitos, osteoblastos e osteoclastos e promovem o processo de remodelação dos tecidos a nível sistémico e local (Noh *et al.*, 2013). Tem sido demonstrado que doentes com periodontite severa têm níveis elevados no soro de PCR, hiper-fibrinogénemia e leucocitose moderada (D'Aiuto *et al.*, 2004). Enzimas derivadas do hospedeiro como a metaloproteinase-8, metaloproteinase-9 e calprotectina são libertadas por polimorfonucleares e osteoclastos, levando à degradação de tecido conjuntivo e osso alveolar, contribuindo para a evolução da doença periodontal (Kinney *et al.*, 2011).

Um dos mediadores inflamatórios que se encontra elevado na periodontite é a metaloproteinase-8 (MMP-8), cuja forma ativa é encontrada em localizações com periodontite ativa e os valores médios são superiores aos encontrados em doentes periodontalmente saudáveis (Teles, Likhari, Socransky & Haffajee, 2010). A nível inflamatório, a MMP-8 salivar tem sido associada com a perda de osso alveolar e o número de bolsas periodontais profundas, o que indica destruição dos tecidos periodontais e reabsorção de osso alveolar, estando também relacionada com um aumento da percentagem de localizações com hemorragia à sondagem, que é um indicador de inflamação e da atividade da doença periodontal (Salminen A *et al.*, 2014). Este mediador inflamatório pode ser encontrado na saliva, fluido crevicular gengival e

bochechos de pacientes com periodontite em vários estudos, sendo um bom exemplo de que existem citocinas cujos valores são influenciados pelo estado de inflamação dos tecidos periodontais (Christodoulides, Floriano, & Miller, 2007; Leppilahti *et al.*, 2010).

Também a IL-1 $\beta$  tem sido encontrada em altas concentrações na saliva de doentes com periodontite comparando com pacientes do grupo controlo noutros estudos (Christodoulides *et al.*, 2007; Rathnayake *et al.*, 2013a). A associação entre a IL-1 $\beta$  e o número de bolsas periodontais profundas é mais forte do que a associação entre outros biomarcadores e o número de bolsas profundas (Salminen A *et al.*, 2014).

Exemplo da relação entre o TNF- $\alpha$  e a doença periodontal é que as concentrações desta citocina têm sido descritas como sendo maiores em pacientes periodontalmente comprometidos relativamente aos periodontalmente saudáveis e que os níveis deste mediador inflamatório baixam aquando da aplicação da terapêutica periodontal (Suvan, D'Aiuto, Moles, Petrie & Donos, 2011).

Noutro estudo realizado por Kinney e seus colaboradores, em 2011, concluíram que os marcadores salivares IL-1 $\beta$ , MMP-8, metaloproteinase-9 (MMP-9) e osteoprotegerina foram os que se encontram mais relacionados com a doença periodontal.

Relativamente à periodontite crónica, a falta de consistência no que diz respeito à sua caracterização a nível imunológico tem sido atribuída à complexidade da patogénese da mesma, ao rigor no seu diagnóstico e à dificuldade na determinação do seu estado de atividade em qualquer período de tempo usando os métodos de diagnóstico convencionais (Prakasam & Srinivasan, 2014).

O mecanismo acerca da forma de como a obesidade afeta o periodonto ainda é pouco compreendida, mas é sabido que a obesidade tem efeitos biológicos lesivos que podem estar relacionados com a patogénese da periodontite (Dahiya, Kamal & Gupta, 2012).

O tecido adiposo, por sua vez, secreta várias citocinas e hormonas que se encontram envolvidas no processo inflamatório, tal como os tecidos constituintes do periodonto, sugerindo que existem mecanismos semelhantes na patofisiologia da obesidade e da doença periodontal (Pischon *et al.*, 2007). Logo, a associação observada entre a obesidade e outras doenças como a periodontite parece dever-se a um desequilíbrio do sistema imunitário do hospedeiro que se encontra presente nos indivíduos obesos (Amin, 2010).

Desequilíbrio esse que se traduz por elevados níveis séricos da PCR, IL-6, TNF- $\alpha$  e leptina, podendo-se inferir que os mecanismos biológicos destas duas doenças são semelhantes e que a secreção destas substâncias pode provocar uma resposta inflamatória na periodontite (Ylöstalo, Suominen-Taipale, Reunanen & Knuuttila, 2008). Como a obesidade leva ao aumento da indução de citocinas poderá haver promoção do processo crónico inflamatório das estruturas periodontais, estimulando a participação de macrófagos na etiopatogenia da doença periodontal, para além da secreção de citocinas pró-inflamatórias, que se encontram presentes no processo de inflamação da doença periodontal. Por conseguinte, pode-se inferir que doentes com obesidade apresentam maior propensão para a doença periodontal.

Outra relação traduz-se pelo facto da obesidade induzir a redução de fluxo sanguíneo para os tecidos periodontais, fazendo com que haja exponencialmente um maior desenvolvimento da doença periodontal (Amin, 2010). Também tem sido intensivamente estudado o fato de a IL-6 fazer aumentar os níveis de proteína C-reativa, fazendo com que a obesidade seja um potencial fator que pode interferir na associação entre a doença periodontal e a proteína C-reativa (Ylöstalo *et al.*, 2008).

Outro exemplo da relação entre as duas doenças resulta do TNF- $\alpha$  ser uma das citocinas secretadas pelo tecido adiposo visceral e que se encontra implicado na mediação da endotoxina induzida por lesão no tecido periodontal (Suvan *et al.*, 2011). A presença desta citocina no fluido gengival crevicular tem sido associada a um IMC $\geq$ 40 (Suvan *et al.*, 2011).

Também tem sido demonstrado que indivíduos que fazem exercício regularmente apresentam níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios mais baixos, portanto, uma sensibilidade à insulina aumentada e que se traduz numa melhoria da saúde periodontal (Pischon *et al.*, 2007).

Este estudo tem como objetivo investigar a relação entre a obesidade e a doença periodontal, devido à presença de alterações imunes observadas em indivíduos portadores destas doenças, nomeadamente, o aumento de mediadores inflamatórios produzidos pelo tecido adiposo e tecidos periodontais inflamados, neste caso a IL-6 e o TNF- $\alpha$ . Pretende-se compreender se o facto de um indivíduo ter obesidade poderá apresenta maior propensão de vir a ter doença periodontal, devido a estas serem duas doenças

inflamatórias, podendo haver mecanismos inflamatórios em comum entre elas. Serão recolhidas amostras de saliva estimulada de uma população de 40 doentes da Clínica Universitária Egas Moniz, que serão submetidas ao Teste ELISA para medição dos mediadores inflamatórios IL-6 e TNF- $\alpha$  presentes nas amostras.

## **2. Hipóteses**

As hipóteses de estudo são:

- Os doentes com Obesidade e com Periodontite possuem um aumento de mediadores inflamatórios de IL-6 e o TNF- $\alpha$ , na saliva.
- O aumento de mediadores inflamatórios como a IL-6 e o TNF- $\alpha$ , presentes na saliva é proporcional à gravidade da Doença Periodontal e da obesidade.
- A perda de inserção periodontal e a presença de obesidade são um indicador de experiência anterior de doença periodontal, nos doentes com periodontite.

## **II – Materiais e métodos**

### **1. Considerações éticas**

Este estudo foi submetido à Comissão de Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz, tendo sido aprovado.

Os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Informado, tendo sido esclarecidos acerca dos objetivos do mesmo. As amostras foram recolhidas e os dados utilizados exclusivamente para análise estatística, mantendo-se a confidencialidade e anonimato.

### **2. Tipo de estudo**

Foi realizado um estudo observacional, analítico e transversal para medir: a) concentração dos mediadores inflamatórios TNF- $\alpha$  e IL-6 que se encontram presentes nas amostras de saliva humana; b) obesidade; c) doença periodontal.

### **3. Local do estudo**

O estudo decorreu na Clínica Universitária Egas Moniz e no laboratório BioquiLab – laboratório de bioquímica do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

O estudo clínico ocorreu, em primeiro lugar, com a recolha de dados clínicos e amostras de saliva estimulada e não estimulada, que antecedeu o trabalho laboratorial realizado no BioquiLab (medição dos mediadores inflamatórios TNF- $\alpha$  e IL-6 na saliva estimulada).

### **4. Estudo clínico**

#### **4.1. Seleção da amostra**

A amostra foi constituída por 40 doentes da Clínica Universitária Egas Moniz, distribuídos em 4 grupos da seguinte forma:

- Grupo A (n=10) – doentes com Obesidade e Periodontite (O+P)
- Grupo B (n=10) – doentes com Obesidade (O)
- Grupo C (n=10) – doentes com Periodontite (P)
- Grupo D (n=10) – doentes Controlo (C)

Em todos os doentes, foi medido o IMC e caso este fosse superior a 30, o doente era considerado obeso. Como auxiliar desta classificação, também foi medido o perímetro da cintura que permite valorizar clínica e epidemiologicamente o peso/obesidade na perspetiva do risco de complicações metabólicas (George, 2013).

Tabela 1: Classificação segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) do IMC

IMC	Classificações
Menor do que 18,5	Abaixo do peso normal
18,5-24,9	Peso normal
25,0-29,9	Excesso de peso
30,0-34,9	Obesidade classe I
35,0-39,9	Obesidade classe II
Maior ou igual a 40,0	Obesidade classe III

Tabela 2: Classificação segundo a OMS do Perímetro da Cintura

Sexo	Risco de complicações metabólicas associadas à obesidade	
	Elevado	Muito elevado
Homem	$\geq 94$ cm	$\geq 102$ cm
Mulher	$\geq 80$ cm	$\geq 88$ cm

Para auferir a condição periodontal, foram medidos o Índice Periodontal Comunitário (IPC) e a Perda de Inserção Periodontal (PIP), tendo sido considerados doentes periodontais aqueles que apresentavam bolsas periodontais em que haveria necessidade de recorrer a tratamento periodontal.

Após aplicação dos critérios de exclusão, os doentes foram subdivididos nos 4 grupos mencionados, cada um com 10 elementos.

#### 4.2. Critérios de inclusão

Foram incluídos indivíduos que tivessem os seguintes critérios comuns: a) doentes da Clínica Universitária Egas Moniz; b) sexo Feminino e Masculino; c) doentes que assinassem o consentimento informado; d) doentes com mais de 18 anos; e) doentes em que fosse possível medir o IPC e PIP.

Os critérios de inclusão específicos para cada grupo da amostra foram os seguintes:

##### Grupo A – Obesidade e Doença periodontal

- Todos os indivíduos que tivessem  $IMC \geq 30$ ;
- Todos os indivíduos que tivessem simultaneamente  $IPC \geq$  a código 3 (bolsa de 4-5 mm) e  $PIP \geq$  a código 1 (1 ou 2 mm de perda de inserção);

##### Grupo B – Obesidade

- Todos os indivíduos que tivessem  $IMC \geq 30$ ;
- Todos os indivíduos que tivessem simultaneamente IPC com código compreendido entre  $>0$  e  $\leq 1$  e PIP de código 0;

##### Grupo C – Doença periodontal

- Todos os indivíduos que tivessem simultaneamente  $IPC \geq$  a código 3 (bolsa de 4-5 mm) e  $PIP \geq$  a código 1 (1 ou 2 mm de perda de inserção);

##### Grupo D – Controlo

- Todos os indivíduos que tivessem  $IMC < 30$ ;
- Todos os indivíduos que tivessem simultaneamente IPC com código compreendido entre  $>0$  e  $\leq 1$  e PIP de código 0.

#### 4.3. Critérios de exclusão

Foram definidos critérios de exclusão específicos para cada grupo da amostra:

##### Grupo A – Obesidade e Doença periodontal

- Gravidez (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Lactante (Kinney *et al.*, 2011a)

- Doença sistêmica (inclui hipossialia, metabólica óssea, auto-imune e diabetes) (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Tratamento periodontal ou terapêutica antibiótica por razões médicas ou dentárias nos últimos 3 meses (Kinney *et al.*, 2011a)
- Desdentado total (Chopra, Gupta, Lakhanpal, Rao & Vashisth, 2013)
- Fumador (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Distúrbios hemostáticos (interfere na hemorragia gengival – altera IPC) (Bourgeois, Christensen, Ottolenghi, Lhodra & Pitts, 2008)
- Doença oncológica (Arias, Aller, Sánchez-Patan & Arias, 2006)
- IMC <30
- IPC com códigos compreendidos entre  $> 0$  e  $\leq a 1$
- PIP de código 0

#### Grupo B – Obesidade

- Gravidez (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Lactante (Kinney *et al.*, 2011a)
- Doença sistêmica (inclui hipossialia, metabólica óssea, auto-imune e diabetes) (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Tratamento periodontal ou terapêutica antibiótica por razões médicas ou dentárias nos últimos 3 meses (Kinney *et al.*, 2011a)
- Desdentado total (Chopra *et al.*, 2013)
- Fumador (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Distúrbios hemostáticos (interfere na hemorragia gengival – altera IPC) (Bourgeois *et al.*, 2008)
- Doença oncológica (Arias *et al.*, 2006)
- IMC<30
- IPC  $\geq$  a código 3 (bolsa de 4-5 mm)
- PIP  $\geq$  a código 1 (1 ou 2 mm de perda de inserção)

#### Grupo C – Doença periodontal

- Gravidez (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Lactante (Kinney *et al.*, 2011a)

- Doença sistémica (inclui hipossialia, metabólica óssea, auto-imune e diabetes) (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Tratamento periodontal ou terapêutica antibiótica por razões médicas ou dentárias nos últimos 3 meses (Kinney *et al.*, 2011a)
- Desdentado total (Chopra *et al.*, 2013)
- Fumador (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Distúrbios hemostáticos (interfere na hemorragia gengival – altera IPC) (Bourgeois *et al.*, 2008)
- Doença oncológica (Arias *et al.*, 2006)
- IMC>30 (Duarte *et al.*, 2014)
- IPC com códigos compreendidos entre  $> 0$  e  $\leq 1$
- PIP de código 0

#### Grupo D - Controlo

- Gravidez (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Lactante (Kinney *et al.*, 2011a)
- Doença sistémica (inclui hipossialia, metabólica óssea, auto-imune e diabetes) (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Tratamento periodontal ou terapêutica antibiótica por razões médicas ou dentárias nos últimos 3 meses (Kinney *et al.*, 2011a)
- Desdentado total (Chopra *et al.*, 2013)
- Fumador (de Araújo Navas *et al.*, 2012)
- Distúrbios hemostáticos (interfere na hemorragia gengival – altera IPC) (Bourgeois *et al.*, 2008)
- Doença oncológica (Arias *et al.*, 2006)
- IMC>30 (Duarte *et al.*, 2014)
- IPC  $\geq$  a código 3 (bolsa de 4-5 mm)
- PIP  $\geq$  a código 1 (1 ou 2 mm de perda de inserção)

#### 4.4. Estudo das variáveis (em todos os grupos)

Foram estudadas as seguintes variáveis:

- Idade

- Género
- Índice Periodontal Comunitário
- Perda de Inserção Periodontal
- Nível de TNF- $\alpha$  na saliva estimulada
- Nível de IL-6 na saliva estimulada
- Taxa de fluxo salivar não estimulado
- Índice de Massa Corporal
- Perímetro da cintura

#### **4.5. Observação clínica**

A nível clínico foram examinados os seguintes parâmetros: IMC, Perímetro da cintura, CPI, PIP e taxa de fluxo salivar não-estimulado.

##### **4.5.1. Calibragem dos examinadores para o IMC, Perímetro da cintura, IPC e PIP**

Antes da observação clínica, procedeu-se à calibragem do examinador, na Clínica Universitária Egas Moniz.

Para calibragem da medição do peso e da altura para obtenção do IMC e do perímetro da cintura, um calibrador (nutricionista experiente) e um examinador observaram 10 doentes aleatórios, tendo sido o grau de concordância inter-observador de 84%.

Com o objetivo de calibrar a medição do IPC e PIP, um calibrador (Médico Dentista experiente) e um examinador observaram 10 doentes aleatórios, registando os resultados do IPC, PIP, a duplo cego. O grau de concordância inter-observador foi de 80% para o IPC e PIP.

##### **4.5.2. Índice de Massa Corporal (em todos os grupos)**

Com o objetivo de ser calculado o IMC foi necessário recolher medidas antropométricas dos doentes, mais precisamente, a altura e o peso. As medições foram realizadas segundo as orientações definidas pela Direção-Geral de Saúde (George, 2013).

A altura foi medida com recurso a um estadiómetro montado de forma correta e assente numa superfície plana, com estabilidade máxima. Foi solicitado à pessoa que removesse o calçado e outros acessórios que pudessem influenciar a avaliação:

- a) Manteve-se a pessoa numa posição vertical e imóvel, com os braços estendidos ao longo do corpo e com as palmas das mãos voltadas para dentro;
- b) Colocou-se a cabeça da pessoa no plano horizontal de *Frankfurt* (linha imaginária que passa pelo bordo inferior da órbita e pelo bordo superior do meato auditivo externo) e pediu-se para manter um olhar fixo, em frente;
- c) Colocou-se os calcanhares ou joelhos da pessoa juntos e as pontas dos pés afastadas a 60°;
- d) Colocou-se os calcanhares, a região gemelar, a cintura pélvica, a cintura escapular e a região occipital em contacto com a parede ou com o metal do estadiómetro, de forma a manter o equilíbrio;
- e) Solicitou-se à pessoa que inspirasse e mantivesse a posição ereta;
- f) Realizou-se a medida com a craveira do estadiómetro num ângulo de 90° em relação à escala, movimentando-a lentamente até comprimir o cabelo e tocar o vértex (ponto mais alto do crânio), tendo-se subido ou descido o necessário para que a observação da escala por parte do examinador se efetuasse em posição rigorosamente perpendicular;
- g) Realizaram-se, sequencialmente, duas medições (exemplo: 166,4 cm e 166,6 cm), tendo-se registado cada medição até ao mais próximo valor de 0,1cm, isto é, a última linha que realmente se consegue observar;
- h) Calculou-se a média aritmética.

Na avaliação do peso, a balança estava previamente calibrada e colocada numa superfície plana e firme, com o ponteiro no zero, a pessoa descalça e apenas com roupa leve, mas sem qualquer acessório (como exemplos, relógio, cinto, colar, pulseira):

- a) Solicitou-se à pessoa que subisse devagar para a plataforma e que ficasse parada, com os pés colocados em posição paralela, com o peso igualmente distribuído pelos dois pés no centro da plataforma;
- b) Solicitou-se à pessoa que mantivesse uma posição vertical, imóvel, com a cabeça ereta, olhar fixo em frente e braços estendidos ao longo do corpo, com as palmas das mãos voltadas para dentro e que mantivesse essa posição;
- c) Realizaram-se, sequencialmente, duas medições;
- d) Avaliou-se cada observação em quilogramas até à primeira casa decimal, se exequível (ex. 70,4 kg), ou seja, os 100 g mais aproximados;
- e) Calculou-se a média aritmética das duas avaliações efetuadas;

- f) Para cálculo final do peso a registar, subtraiu-se sempre 0,5 kg à média citada no ponto anterior (correção do peso relativa ao uso de roupa leve);
- g) Registou-se o peso final apurado conforme o ponto anterior.

#### **4.5.3. Perímetro da cintura (em todos os grupos)**

A avaliação do perímetro da cintura é efetuada sobre a pele abdominal, tendo sido solicitado, para tal, que a pessoa não tivesse qualquer roupa na zona a avaliar e verificando-se se não era exercida nenhuma força sobre a zona a analisar (exemplo: cinto ou equivalente):

- a) Colocou-se a pessoa com o tronco na vertical, imóvel, abdómen relaxado, braços pendentes ao longo do corpo, com as palmas das mãos voltadas para dentro, cabeça ereta, pés unidos e o peso do corpo igualmente distribuído pelos dois pés;
- b) Segundo as recomendações da OMS, a medição foi efetuada no ponto médio entre o bordo inferior da última costela palpável e o bordo superior da crista ilíaca e efetuou-se a medição na zona mais estreita do abdómen, conhecida por cintura natural, com a fita métrica colocada em plano paralelo ao pavimento, sempre no final do ciclo respiratório, isto é, no momento final de uma expiração normal e sem que a fita métrica exerça qualquer compressão sobre a pele mas fique a ela ajustada;
- c) Realizaram-se duas medições, retirando totalmente a fita métrica após a primeira avaliação e recolocando-a, nas condições citadas no ponto b);
- d) Registou-se cada medição até ao mais próximo 0,1 cm, isto é, a última linha que realmente se consiga observar, em cada medição;
- e) Foram repetidas as duas medições nos casos em que houve uma diferença avaliada superior a 1 centímetro e foram consideradas válidas no caso da diferença ser igual ou inferior a 1 centímetro;
- f) Calculou-se a média aritmética e registou-se o valor apurado.

#### **4.5.4. Determinação da taxa de fluxo salivar não-estimulado (em todos os grupos)**

A saliva foi recolhida num tubo graduado durante 5 minutos, sendo que os resultados são expressos em ml/min. Ao doente foi explicado que deveria repousar a língua na face palatina dos incisivos superiores e deixar cair a saliva de forma passiva, tentando manter-se o mais estático possível.

O doente foi instruído a manter-se com o tronco ligeiramente flexionado para a frente, numa posição relaxada.

A saliva foi recolhida no período entre as 11h e as 18h, com recurso a um tubo graduado de Falcon durante 5 min cronometrados, tendo os resultados sido expressos em ml/min.

Taxa de secreção **normal**-----**0.25-0.35ml/min**

Taxa de secreção **baixa**-----**0.1-0.25ml/min**

(Andrade, Paraíso, Souza, Freitas & Galvão, 2007)

A determinação da taxa de fluxo salivar não-estimulada foi realizada nos 4 grupos pertencentes à amostra com o objetivo de se verificar se os doentes apresentavam hipossaliva, que foi um dos fatores de exclusão comum aos 4 grupos de estudo.

#### 4.5.5. Determinação do Índice Periodontal Comunitário – IPC (em todos os grupos)

Com o objetivo de se avaliar a saúde periodontal e a gravidade da doença periodontal, recorreu-se ao IPC e à PIP, com base no *European Global Oral Health Indicators Development* (EGOHID) de 2008.

A boca é dividida em sextantes que são definidos pelos dentes:18-14,13-23,24-28,38-34,33-43,44-48. Para a avaliação destes indicadores, é necessário excluir os sextantes que não serão examinados por não terem dentes suficientes. Apenas se avalia um sextante, se estiverem presentes dois ou mais dentes que não estejam indicados para extração.

Para uma correta medição da perda de inserção de um sextante a mesma deve ser medida imediatamente depois do IPC desse mesmo sextante.

As medições são realizadas em dentes índice: primeiro e segundo molares, incisivo central superior direito e incisivo central inferior esquerdo.

Tabela 3: Dentes índice avaliados no IPC e PIP para adultos (35-44 anos) e (65-74 anos)(Bourgeois *et al.*, 2008)

17	16	11	26	27
47	46	31	36	37

Os dois molares em cada sextante posterior devem ser registrados, mas se um se encontra ausente, não é substituído. Se não existir dentes índice presentes num sextante para examinação, todos os dentes remanescentes nesse sextante devem ser examinados e a pontuação mais alta deve ser registrada como a mais alta desse sextante. Devem-se desprezar as bolsas das faces distais dos terceiros molares.

Para determinar este índice, foi necessário realizar a sondagem periodontal de cada dente índice em 6 localizações (disto-vestibular, centro-vestibular, mésio-vestibular, disto-palatino, centro-palatino, mesio-palatino), sendo que a cada sextante foi atribuído um código condizente com o dente que apresentava maior gravidade.

Cada localização tem um indicador do estado periodontal, tendo sido avaliada em (Bourgeois et al., 2008):

- (0) Saúde gengival
- (1) Hemorragia gengival
- (2) Presença de cálculo
- (3) Bolsa periodontal (4-5mm)
- (4) Bolsa periodontal (6mm ou mais)
- (9) Impossível de determinar
- (X) Sextante excluído

#### **4.5.6. Determinação da Perda de Inserção Clínica – PIP (em todos os grupos)**

A perda de inserção clínica é definida como a distância desde a junção amelo-cimentária até à margem gengival.

A perda de inserção é avaliada em 6 localizações nos dentes índice, tal como o IPC, permitindo avaliar o grau de gravidade da doença periodontal. É apenas registado o valor mais alto correspondente a cada sextante, tendo esse valor um código correspondente (ver Tabela 4).

Tabela 4: Codificação do índice PIP (Bourgeois et al., 2008)

<b>Código</b>	<b>Descrição</b>
0	Sem perda de inserção
1	1 ou 2 mm de perda de inserção (Periodontite Ligeira)
2	3 ou 4 mm de perda de inserção (Periodontite Moderada)
3	5 ou mais mm de perda de inserção (Periodontite Severa)

## 5. Conservação das amostras de saliva estimulada recolhidas

Após a recolha da amostra de saliva estimulada em tubos graduados, a mesma era congelada a uma temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  até ser realizada a respetiva análise imunológica, tendo sido inequivocamente identificadas no momento da colheita, rotuladas e tratadas de forma a que se respeite o direito de privacidade do dador de acordo com a lei n.º12/2005, publicado no Diário da República. Cada tubo foi rotulado com uma identificação que posteriormente gerou um código com o número de identificação, o que garantiu a rastreabilidade da amostra e separação de dados pessoais e clínicos (Normalizado, 2011).

Optou-se pela utilização das amostras de saliva estimulada dado que a quantidade de saliva que estas apresentam é maior relativamente às amostras de saliva não-estimulada, o que poderia ser importante caso fosse necessário repetir algum imunoensaio, não se encontrando também tão espessa como a não-estimulada, facilitando a pipetagem destas amostras para posterior análise.

A análise dos mediadores inflamatórios (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) presentes nas amostras de saliva foi realizada através do equipamento Immulite, da Siemens.

## 6. Identificação das amostras

As amostras foram identificadas por letras, correspondendo ao grupo de doentes a que pertencia a amostra e com números, de 0 até 40.

De 1 até 10: Grupo A (Obesidade e Doença periodontal)

- ✓ Os tubos foram identificados como A1, A2, A3 ... até A10

De 11 até 20: Grupo B (Obesidade)

- ✓ Os tubos foram identificados como B11, B12, B13 ... até B20

De 21 até 30: Grupo C (Doença periodontal)

- ✓ Os tubos foram identificados como C21, C22, C23 ... até C30

De 31 até 40: Grupo D (Controlo)

- ✓ Os tubos foram identificados como D31, D32, D33 ... até D40

## **7. Estudo laboratorial**

### **7.1. Medição dos níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 nas amostras recolhidas de saliva estimulada**

Cerca de uma a duas horas antes da medição imunológica, procedeu-se à descongelação das amostras. Amostras essas que foram pipetadas e posteriormente analisadas pelo equipamento IMMULITE da Siemens, que permite a realização de imunoensaios através de quimioluminescência automatizados, sendo que através do recurso a kits específicos, quantifica os valores de IL-6 e TNF- $\alpha$  presentes nessas amostras. Este equipamento recorre a ensaios específicos através de pérolas de poliestireno que são recobertas por um reagente marcado com fosfatase alcalina, um substrato quimioluminescente e um antigénio ou anticorpo que corresponde a uma fase sólida e que se encontra alojado num dispositivo plástico sólido, denominado unidade teste. O sistema Immulite automatiza o processo de ensaio, sendo que o operador apenas participa na fase inicial, que consiste na transferência das amostras para as unidades de teste e colocá-las na plataforma de carga.

Protocolo laboratorial:

- 1 – Pipetou-se cada amostra de saliva para 3 tubos codificados por códigos de barras, sendo estes designados unidades de teste;
- 2 – Transferiam-se as unidades de teste para os dispositivos de incubação principal;
- 3 – Adicionavam-se os reagentes correspondentes aos *kits* utilizados e fosfatase alcalina;

- 4 – O primeiro tubo apresentava substrato, sendo considerado o tubo controlo que iria calibrar o ensaio para medição dos níveis de TNF- $\alpha$  (pertencente ao *kit* TNF- $\alpha$ ) no segundo tubo e de IL-6 no terceiro tubo (pertencente ao *kit* IL-6);
- 5 – Premia-se a tecla *Go* do painel de controlo do *Immuline*, iniciando-se a leitura do código de barras das unidades de teste;
- 6 – Iniciava-se a incubação a 37°C durante cerca de 30 a 60 minutos;
- 7 – Unidades de teste sofriam processos de centrifugação e lavagem;
- 8 – Novo processo de incubação durante 10 minutos a uma temperatura de 37°C;
- 9 – Os valores de IL-6 e TNF- $\alpha$  de cada amostra eram expressos em pg/ml, tendo sido registados numa folha de laboratório e posteriormente introduzidos no Programa Microsoft Excel para posterior análise estatística.

## 8. Base de dados para o registo

Os dados clínicos e laboratoriais, que foram sendo recolhidos foram introduzidos e codificados no Programa Microsoft Excel, para que fosse possível uma análise estatística recorrendo ao software SPSS®.

## 9. Análise estatística

A análise estatística envolveu a utilização de medidas de estatística descritiva (frequências absolutas e relativas, médias e desvios padrão) e estatística inferencial. Nesta utilizou-se como referência para aceitar ou rejeitar a hipótese nula um nível de significância ( $\alpha$ )  $\leq 0,05$ . No entanto se encontrarmos diferenças significativas para um nível de significância ( $\alpha$ )  $\leq 0,10$  estas serão devidamente comentadas.

Utilizou-se os coeficientes de correlação de Spearman pois as variáveis quantitativas não tinham distribuição normal. Nas hipóteses em que estamos a comparar dois grupos utilizou-se o teste t de Student e nas hipóteses em que estamos a comparar mais de dois grupos utilizou-se o teste Anova One-Way, pois as variáveis dependentes eram de tipo quantitativo.

Os pressupostos destes testes, nomeadamente o pressuposto de normalidade de distribuição e o pressuposto de homogeneidade de variâncias foram analisados com os testes de Shapiro-Wilk e teste de Levene. A análise estatística foi efectuada com o SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 21 para Windows.



### III – Resultados

#### 1 – Caracterização da amostra

##### 1.1. Caracterização dos 4 grupos que compunham a amostra

Os indivíduos encontravam-se agrupados em 4 grupos distintos: doentes com obesidade e periodontite, doentes com obesidade, doentes com periodontite e doentes saudáveis (controlo). A distribuição dos doentes por cada grupo era homogénea (25,0%,  $n = 10$ ).

Tabela 5: Tabela de frequências absolutas e relativas da constituição de cada grupo da amostra

	Frequência	Percentagem
Doentes com obesidade e periodontite	10	25,0
Doentes com obesidade	10	25,0
Doentes com periodontite	10	25,0
Doentes saudáveis (controlo)	10	25,0
Total	40	100,0

##### 1.2. Género

**Análise de dados:** Colaboraram na investigação 40 indivíduos. A maioria era do sexo feminino (57,0%,  $n = 23$ ) enquanto o sexo masculino encontrava-se representado pelos restantes 43,0% ( $n = 17$ ).

Figura 2: Gráfico de frequências relativas do género

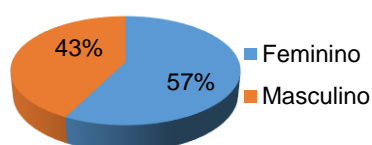


Tabela 6: Género dos indivíduos que participaram no estudo clínico

Género	Frequência	Percentagem	Percentagem cumulativa
Masculino	17	43	43
Feminino	23	57	100
Total	40	100%	

### 1.3. Idade

**Análise de dados:** Neste estudo, foram avaliados 40 indivíduos. A média de idades foi de 45,10 anos (dp=14,56). A idade mínima foi de 21 anos e a idade máxima foi de 70 anos.

Tabela 7: Idade dos indivíduos participantes no estudo

Idade	Frequência	Porcentagem	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
21	2	5	45,1	14,56	21	70
22	1	2,5				
24	1	2,5				
25	3	7,5				
27	1	2,5				
32	1	2,5				
33	1	2,5				
34	2	5				
36	1	2,5				
38	1	2,5				
43	1	2,5				
44	3	7,5				
45	3	7,5				
46	1	2,5				
50	1	2,5				
51	1	2,5				
53	2	5				

54	3	7,5				
55	2	5				
56	2	5				
60	1	2,5				
64	1	2,5				
65	1	2,5				
66	1	2,5				
67	1	2,5				
68	1	2,5				
70	1	2,5				
<b>Total</b>	40					

#### 1.4. Altura, peso, IMC, perímetro da cintura, TNF- $\alpha$ e IL-6

**Análise de dados:** As estatísticas descritivas das variáveis altura, peso, IMC, perímetro da cintura, TNF- $\alpha$  e IL-6 podem ser apreciadas na tabela nº8. Nela indicamos os valores mínimos e máximos, médias e respetivos desvio padrão de cada variável.

Tabela 8: Estatística descritiva da altura, peso, IMC, perímetro da cintura, TNF- $\alpha$  e IL-6 da amostra

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Altura	40	1,45	1,85	1,65	0,10
Peso	40	42,60	145,00	82,26	20,04
IMC	40	17,73	46,79	30,05	6,59
Perímetro da cintura	40	48,00	142,00	98,36	18,20
TNF- $\alpha$	40	11,90	55,50	24,12	9,43
IL-6	40	5,20	51,40	20,13	11,37

Nas figuras 2 e 3 podemos apreciar os valores de TNF- $\alpha$  e IL-6 em cada grupo. Nos grupos obesidade e periodontite e periodontite (A e C) identificámos 2 observações que podem ser consideradas outliers no que respeita aos níveis de TNF- $\alpha$ .

Figura 3: Diagrama de extremos e quartis relativos aos níveis de TNF- $\alpha$

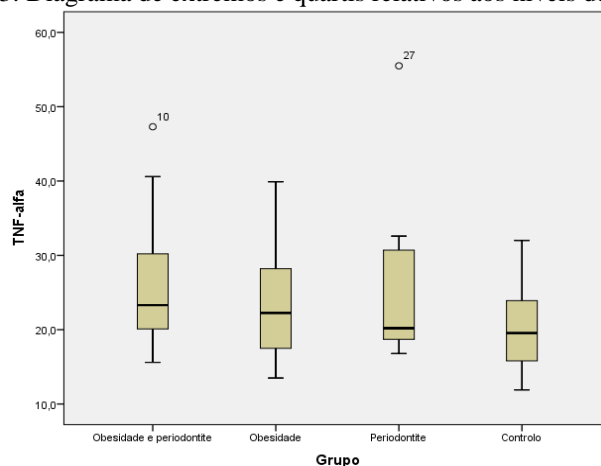
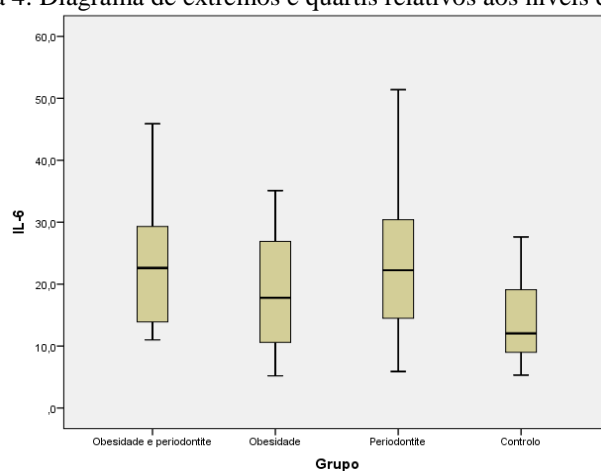


Figura 4: Diagrama de extremos e quartis relativos aos níveis de IL-6



### 1.5. Índice Periodontal Comunitário

**Análise de dados:** Os doentes foram agrupados em duas classes no que respeita à doença periodontal: saúde periodontal (código IPC 0 e 1) e doença periodontal (código IPC 3 e 4). Na amostra, 10% dos indivíduos apresentaram saúde gengival, 40% hemorragia gengival, 22,5% pelo menos uma bolsa periodontal de 3-4mm e 27,5% pelo menos uma bolsa periodontal com mais de 5mm.

Tabela 9: Tabela de frequências absolutas e relativas do IPC

	Frequência	Percentagem
saúde periodontal	4	10,0
hemorragia gengival	16	40,0
Bolsa periodontal 3-4mm	9	22,5
Bolsa periodontal + 5mm	11	27,5
Total	40	100,0

## 1.6. Perda de inserção periodontal

**Análise de dados:** Os doentes foram agrupados em três classes quanto à gravidade da doença periodontal: periodontite ligeira (código 1), periodontite moderada (código 2) e periodontite severa (código 3). Na amostra, 15% dos doentes não apresentavam perda de inserção, 32,5% perda de inserção de 1 ou 2 mm (periodontite ligeira), 32,5% perda de inserção 3 ou 4 mm (periodontite moderada) e 20% perda de inserção igual ou superior a 5 mm (periodontite severa).

Tabela 10: Tabela de frequências absolutas e relativas do índice PIP

	Frequência	Percentagem
Sem perda de inserção	6	15,0
Com perda de 1mm ou 2mm	13	32,5
Com perda de 3mm ou 4mm	13	32,5
Com perda de 5mm ou mais	8	20,0
Total	40	100,0

## 1.7. Taxa de fluxo salivar não-estimulado

**Análise de dados:** Dos 40 indivíduos que respeitaram os critérios de inclusão do estudo, 8 apresentavam uma taxa de fluxo salivar não-estimulado baixa e 32 uma taxa normal.

Tabela 11: Taxa de fluxo salivar não-estimulado

	Frequência	Percentagem	Percentagem cumulativa	Média	Desvio Padrão
<0.1-0.25ml/min	8	20	20	0,412	0,2554
>0.25-0.35ml/min	32	80	100		

## 2. Comparação dos níveis de TNF- $\alpha$ nos 4 grupos da amostra

Constatou-se haver normalidade nos resultados dos níveis de TNF- $\alpha$  nos 4 grupos em estudo, sendo que através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk conclui-se haver relação entre os 4 grupos, verificando-se homogeneidade de variâncias.

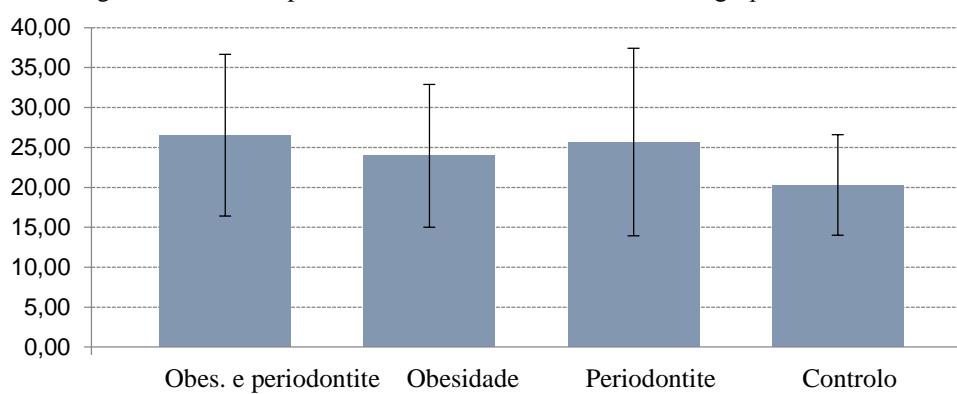
Realizou-se também o teste ANOVA, concluindo-se que, devido à amostra ser reduzida, não existe significância de valores dentro de cada grupo, apenas entre grupos.

Tabela 12: Associação dos níveis de TNF- $\alpha$  nos 4 grupos da amostra

Obesidade e periodontite		Obesidade		Periodontite		Controlo		Sig.
M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	
26,53	10,13	23,95	8,94	25,68	11,74	20,32	6,29	,481

Os valores de TNF- $\alpha$  foram mais baixos no grupo de controlo e mais elevados no grupo de Obesidade e Periodontite (20,32 vs 26,53), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $F(3, 36) = 0,841$ ,  $p = 0,481$ .

Figura 5: Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$  nos 4 grupos da amostra



### 3. Comparação dos níveis de IL-6 nos 4 grupos da amostra

Constatou-se haver normalidade nos resultados relativos aos níveis de IL-6 nos 4 grupos em estudo, dado que através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk, concluiu-se haver relação entre os 4 grupos, tendo-se verificado homogeneidade de variâncias.

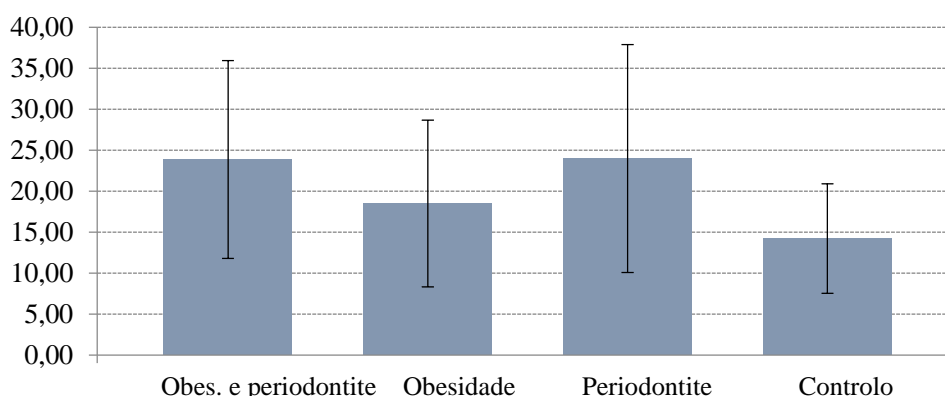
Realizou-se também o teste ANOVA, concluindo-se que, devido à amostra ser reduzida, não existe significância de valores dentro de cada grupo, apenas entre grupos.

Tabela 13: Associação dos níveis de IL-6 nos 4 grupos da amostra

Obesidade e periodontite		Obesidade		Periodontite		Controlo		Sig.
M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	
23,86	12,08	18,48	10,17	23,99	13,90	14,22	6,67	,161

Os valores de IL-6 foram mais baixos no grupo de controlo e mais elevados no grupo de Periodontite (14,22 vs 23,99), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $F(3, 36) = 1,818$ ,  $p = 0,161$ .

Figura 6: Gráfico representativo dos níveis de IL-6 nos 4 grupos da amostra



#### 4. Correlação das variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade

Recorreu-se ao teste não-paramétrico de Spearman's para testar a existência de correlações não-paramétricas em cada grupo com as variáveis em estudo.

##### 4.1. Grupo A (obesidade e periodontite)

No grupo de doentes com obesidade e periodontite encontrámos os seguintes coeficientes de correlação:

Tabela 14: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo A

	TNF- $\alpha$	IL-6	IPC	PIP	IMC	Perímetro da cintura
IL-6	0,248					
IPC	-0,071	0,000				
PIP	-0,34	0,229	0,325			
IMC	0,321	0,139	-0,213	0,187		
Perímetro da cintura	0,188	0,116	0,463	0,703*	0,632*	
Idade	-,632*	0,128	0,321	,257	-0,65	-,271

\*  $p \leq 0,05$

O coeficiente de correlação entre a idade e o TNF- $\alpha$  foi estatisticamente significativo, negativo e forte ( $r=-,632$ ). Como o coeficiente foi negativo, isso significa que os níveis de TNF- $\alpha$  tenderam a diminuir com o aumento da idade em indivíduos com obesidade.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o PIP foi estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,703$ ). Logo, quanto maior foi o perímetro da cintura também a perda de inserção periodontal tendeu a aumentar.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o IMC foi estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,632$ ). Logo, quanto maior foi o perímetro da cintura também o IMC tendeu a aumentar.

No grupo de doentes com obesidade e periodontite encontramos os seguintes coeficientes de correlação não significativos:

Os coeficientes de correlação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e as variáveis IL-6, IMC e perímetro da cintura foram positivos e fracos. Por conseguinte, neste estudo, quanto maiores os níveis de TNF- $\alpha$  também os níveis de IL-6, IMC e perímetro da cintura tenderam a aumentar. Pelo contrário, os coeficiente de correlação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e as variáveis IPC e PIP foram negativos e fracos, logo quanto maiores os níveis de TNF- $\alpha$  obtidos neste estudo menores foram o IPC e PIP.

Os coeficientes de correlação entre os níveis de IL-6 e as variáveis PIP, IMC, perímetro da cintura e idade foram positivos e fracos. Por conseguinte, neste estudo, quanto maiores foram os níveis de IL-6 obtidos, maiores eram os de PIP, IMC, perímetro da cintura e idade do indivíduo. Não foi encontrada correlação entre os níveis da IL-6 e de IPC.

Os coeficientes de correlação entre o IPC e as variáveis PIP, perímetro da cintura e idade foram positivos e fracos. Portanto, os valores entre o IPC e estas variáveis foram diretamente proporcionais, o que não aconteceu com o IMC, cujos valores são inversamente proporcionais, dado que o coeficiente de correlação obtido foi negativo e fraco.

Os coeficientes de correlação entre o PIP e as variáveis IMC e idade foram positivos e fracos. Logo, neste estudo os valores de PIP tenderam a aumentar com o IMC e com a idade.

O coeficiente de correlação entre a idade e o perímetro da cintura foi negativo e fraco. Desta forma, o perímetro da cintura diminuiu com a idade nos indivíduos deste grupo da amostra.

## 4.2.Grupo B (Obesidade)

No grupo de doentes com obesidade encontrámos os seguintes coeficientes de correlação:

Tabela 15: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo B

	TNF- $\alpha$	IL-6	IPC	PIP	IMC	Perímetro da cintura
IL-6	,006					
IPC	,087	-,348				
PIP	,042	,243	-,548			
IMC	,091	,236	,348	-,479		
Perímetro da cintura	,049	,006	,354	-,342	,917**	
Idade	-,693*	,006	,437	-,501	,310	,250

\*  $p \leq 0,05$  \*\*  $p \leq 0,01$

O coeficiente de correlação entre a idade e o TNF- $\alpha$  foi estatisticamente significativo, negativo e forte ( $r=-,693$ ). Assim, os níveis de TNF- $\alpha$  tenderam a diminuir com o aumento da idade.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o IMC foi estatisticamente significativo, positivo e muito forte ( $r=,917$ ). Por conseguinte, quanto maior o perímetro da cintura, maiores tenderam a ser os valores de IMC.

No grupo de doentes com obesidade encontrámos os seguintes coeficientes de correlação não significativos:

Os coeficientes de correlação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e as variáveis IL-6, IPC, PIP, IMC e perímetro da cintura foram positivos e fracos. Logo, na amostra estudada quanto mais elevados os níveis de TNF- $\alpha$  também os valores de IL-6, IPC, PIP IMC e perímetro de cintura tenderam a ser mais elevados.

Os coeficientes de correlação entre os níveis de IL-6 e as variáveis PIP, IMC, perímetro da cintura e idade foram positivos e fracos. Portanto, os valores entre os níveis de IL-6 e estas variáveis foram diretamente proporcionais, o que não aconteceu com o IPC cujos valores foram inversamente proporcionais, dado que o coeficiente de correlação obtido foi negativo e fraco.

Os coeficientes de correlação entre o IPC e as variáveis IMC e perímetro da cintura foram positivos e fracos. Relativamente à idade, o coeficiente obtido foi positivo e moderado e no que respeita ao PIP negativo e moderado. Consequentemente, neste estudo, os valores

de IPC aumentaram proporcionalmente com o IMC, perímetro da cintura e idade e diminuíram com o PIP.

Os coeficientes de correlação entre o PIP e as variáveis IMC, perímetro da cintura e idade foram negativos e moderados em relação ao IMC e idade e o coeficiente obtido com o perímetro da cintura foi fraco. Por conseguinte, os valores de PIP tenderam a diminuir com o IMC, perímetro da cintura e idade.

O coeficiente de correlação obtido entre o IMC e a idade foi positivo e fraco. Deste modo, neste grupo de doentes o IMC aumentou com a idade.

#### 4.3. Grupo C (Doença periodontal)

No grupo de doentes com periodontite encontrámos os seguintes coeficientes de correlação:

Tabela 16: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo C

	TNF- $\alpha$	IL-6	IPC	PIP	IMC	Perímetro da cintura
IL-6	,212					
IPC	,174	,313				
PIP	,065	,259	,000			
IMC	,455	,164	-,104	,597		
Perímetro da cintura	,626	-,049	,035	,566	,638*	
Idade	,503	-,091	,244	,091	,576	,237

\*  $p \leq 0,05$

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o IMC foi estatisticamente significativo, positivo e moderado ( $r=,638$ ). Logo, quanto maior o perímetro da cintura maiores tenderam a ser os valores de IMC.

No grupo de doentes com periodontite e encontrámos os seguintes coeficientes de correlação não significativos:

Os coeficientes de correlação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e as variáveis IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade foram positivos e fracos relativamente à IL-6, IPC e PIP e moderados no que concerne ao IMC, perímetro da cintura e idade. Logo, na amostra estudada quanto mais elevados os níveis de TNF- $\alpha$  também os valores de IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro de cintura e idade tenderam a aumentar.

Os coeficientes de correlação entre os níveis de IL-6 e as variáveis IPC, PIP e IMC foram positivos e fracos. Portanto, os valores entre os níveis de IL-6 e estas variáveis são diretamente proporcionais, o que não acontece com as variáveis perímetro da cintura e idade, cujos valores foram inversamente proporcionais, dado que o coeficiente de correlação obtido foi negativo e fraco.

Os coeficientes de correlação entre o IPC e as variáveis perímetro da cintura e idade foram positivos e fracos e em relação ao IMC foi negativo e fraco, não se tendo obtido correlação com o PIP. Por conseguinte, os valores de IPC aumentaram com o perímetro da cintura e idade e diminuíram com o IMC.

Os coeficientes de correlação entre o PIP e as variáveis IMC e perímetro da cintura foram positivos e moderados e no que concerne à idade foi positivo e fraco. Pelo que, neste estudo, os valores de PIP tenderam a aumentar com o IMC, perímetro da cintura e idade.

Os coeficientes de correlação entre o IMC e a idade foi positivo e moderado. Assim, os valores de IMC aumentaram com a idade, no presente estudo.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e a idade foi positivo e fraco. Deste modo, o perímetro da cintura aumenta com a idade neste grupo de estudo.

#### 4.4. Grupo D (Controlo)

No grupo de doentes do grupo de controlo encontramos os seguintes coeficientes de correlação significativos:

Tabela 17: Correlações entre as variáveis TNF- $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo D

	TNF- $\alpha$	IL-6	IPC	PIP	IMC	Perímetro da cintura
IL-6	,370					
IPC	,174	,087				
PIP	-,267	-,127	,320			
IMC	-,067	,188	,348	,737*		
Perímetro da cintura	,261	,310	,393	,491	,912**	
Idade	,109	,517	,000	,494	,717*	,726*

\*  $p \leq 0,05$  \*\*  $p \leq 0,01$

O coeficiente de correlação entre o IMC e o PI foi estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,737$ ). Como o coeficiente foi positivo, quanto mais elevados foram os valores de IMC maiores os valores de PIP obtidos.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o IMC foi estatisticamente significativo, positivo e muito forte ( $r=,912$ ). Tal como nos restantes grupos, quanto maior o perímetro da cintura maiores tenderam a ser os valores de IMC.

O coeficiente de correlação entre a idade e o IMC foi estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,717$ ). Como o coeficiente de correlação deu um valor positivo significa que os valores de IMC tendem a ser mais elevados com a idade.

O coeficiente de correlação entre a idade e o perímetro da cintura é estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,726$ ). Pode-se inferir que o perímetro da cintura tendeu a aumentar com a idade.

No grupo de doentes do grupo controlo encontrámos os seguintes coeficientes de correlação não significativos:

Os coeficientes de correlação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e as variáveis IL-6, IPC, perímetro da cintura e idade foram positivos e no que diz respeito à correlação com as variáveis PIP e IMC negativos, tendo sido em ambos os casos fracos. Logo, na amostra estudada quanto mais elevados os níveis de TNF- $\alpha$  também os valores de IL-6, IPC, perímetro de cintura e idade tenderam a ser mais elevados, acontecendo o inverso com o PIP e IMC.

Os coeficientes de correlação entre os níveis de IL-6 e as variáveis IPC, IMC e perímetro da cintura foram positivos e fracos, tendo sido moderado apenas com a idade. Portanto, os valores entre os níveis de IL-6 e estas variáveis são diretamente proporcionais, o que não acontece com a variável PIP, cujos valores são inversamente proporcionais, dado que o coeficiente de correlação obtido foi negativo e fraco.

Os coeficientes de correlação entre o IPC e as variáveis PIP, IMC e perímetro da cintura foram positivos e fracos, não tendo sido obtida correlação com a idade. Deste modo, os valores de PIP aumentaram proporcionalmente como valores de PIP, IMC e perímetro da cintura.

Os coeficientes de correlação entre o PIP e as variáveis perímetro da cintura e idade foram positivos e moderados. Por conseguinte, os valores de PIP aumentam consoante o perímetro da cintura e a idade nos indivíduos constituintes da amostra em estudo.

## 5. Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-6 e o género

### 5.1. Grupo A (obesidade e periodontite)

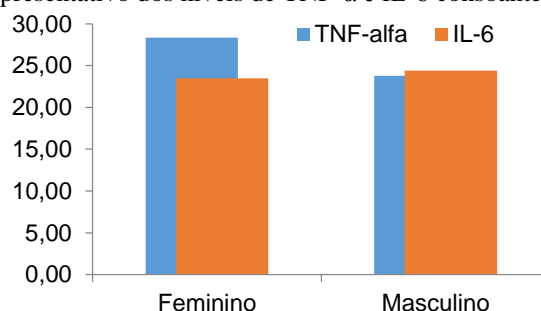
Tabela 18: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e o género no grupo A

	Feminino		Masculino		Sig.
	M	DP	M	DP	
TNF-alfa	28,36	12,58	23,77	5,21	,515
IL-6	23,50	11,05	24,40	15,28	,916

Os valores de TNF- $\alpha$  foram mais baixos nos homens do que nas mulheres (23,77 vs 28,36), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = 0,681$ ,  $p = 0,515$ .

Os valores de IL-6 foram mais baixos nas mulheres do que nos homens (23,50 vs 24,40), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = -0,040$ ,  $p = 0,916$ .

Figura 7: Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 consoante o género no grupo A



### 5.2. Grupo B (obesidade)

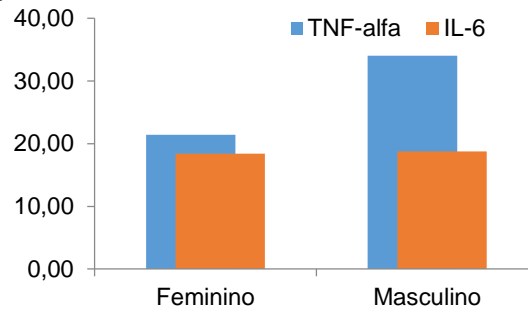
Tabela 19: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e o género no grupo B

	Feminino		Masculino		Sig.
	M	DP	M	DP	
TNF-alfa	21,42	7,52	34,05	8,27	,070
IL-6	18,41	11,47	18,75	3,04	,969

Os valores de TNF- $\alpha$  foram mais baixos nas mulheres do que nos homens (21,42 vs 34,05), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = -2,094$ ,  $p = 0,070$ .

Os valores de IL-6 foram mais baixos nas mulheres do que nos homens (18,41 vs 18,75), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = -0,040$ ,  $p = 0,969$ .

Figura 8: Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 consoante o género no grupo B



### 5.3. Grupo C (Periodontite)

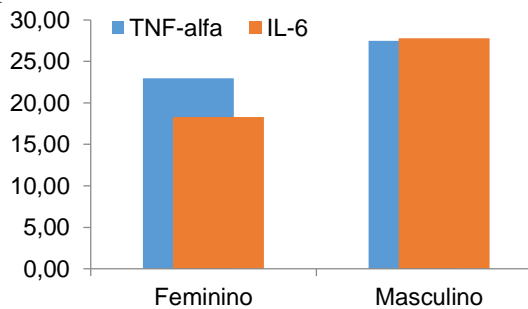
Tabela 20: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e o género no grupo C

	Feminino		Masculino		Sig.
	M	DP	M	DP	
TNF-alfa	22,95	7,13	27,50	14,41	,580
IL-6	18,30	10,26	27,78	15,53	,318

Os valores de TNF- $\alpha$  foram mais baixos nas mulheres do que nos homens (22,95 vs 27,50), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = -0,577$ ,  $p = 0,580$ .

Os valores de IL-6 foram mais baixos nas mulheres do que nos homens (18,30 vs 27,78), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = -1,065$ ,  $p = 0,318$ .

Figura 9: Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 consoante o género no grupo C



### 5.4. Grupo D (controlo)

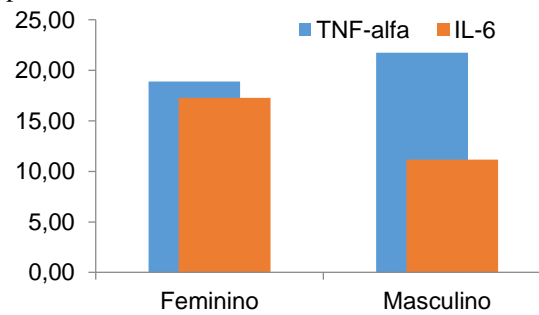
Tabela 21: Associação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e o género no grupo D

	Feminino		Masculino		Sig.
	M	DP	M	DP	
TNF-alfa	18,90	5,86	21,74	7,05	,508
IL-6	17,28	7,13	11,16	5,08	,157

Os valores de TNF- $\alpha$  foram mais baixos nas mulheres do que nos homens (18,90 vs 21,74), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = -0,693$ ,  $p = 0,508$ .

Os valores de IL-6 foram baixos nos homens do que nas mulheres (11,16 vs 17,28), embora a diferença não seja estatisticamente significativa,  $t(8) = 1,562$ ,  $p = 0,157$ .

Figura 10: Gráfico representativo dos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 consoante o género no grupo D





#### IV – Discussão

A análise de biomarcadores salivares pode ser uma solução para o diagnóstico de condições sistémicas diferentes em estudos epidemiológicos (Rathnayake *et al.*, 2013b). Estes mediadores inflamatórios podem ser avaliados na saliva dos doentes, que tem sido usada como meio para avaliar qualitativamente e quantitativamente certas doenças, contribuindo para o seu diagnóstico e caracterização (Kinney *et al.*, 2011b). As citocinas são moléculas que participam na regulação da resposta imunitária (Erciyas, 2010), sendo que estes marcadores moleculares refletem a saúde a nível sistémico do indivíduo, assim como o estado de atividade de certas doenças (Sharma, Bairy & Pai, 2011).

A obesidade também tem sido associada a um desequilíbrio na resposta imunitária e a um aumento do risco de doenças infecciosas como a periodontite (Prpić, Kuis & Pezelj-Ribarić, 2012). Para além da associação entre o TNF- $\alpha$  e a IL-6, cujos níveis se encontram aumentados nestas doenças, também tem sido descrita uma associação entre os níveis de IL-6 e PCR, dado que o aumento dos níveis de IL-6 induzem o aumento da produção da PCR a nível hepático (Banks *et al.*, 1995; Visser *et al.*, 1999; Rexrode *et al.*, 2003).

Os valores obtidos nos 4 grupos da amostra relativamente aos níveis de TNF- $\alpha$  foram avaliados estatisticamente através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk, havendo relação entre os 4 grupos e homogeneidade de variâncias. Como a amostra era reduzida, não houve significância de valores dentro de cada grupo, apenas entre grupos. Os valores de TNF- $\alpha$  foram mais baixos no grupo de controlo e mais elevados no grupo de Obesidade e Periodontite (20,32 vs 26,53), mas sem significância estatística,  $p = 0,481$ . Os níveis de TNF- $\alpha$  foram elevados em doentes do grupo A (obesidade e periodontite), B (obesidade) e C (periodontite), mas não se pode concluir se esta citocina é um marcador específico de uma das doenças, porque se encontra elevada nas duas, mas não de forma significativa.

Estes resultados encontram-se de acordo com os obtidos noutros estudos em que os níveis de TNF- $\alpha$  foram superiores em doentes com obesidade comparativamente a doentes não-obesos (Park *et al.*, 2005; Goyal *et al.*, 2012).

Nos doentes com periodontite, os resultados obtidos vêm no seguimento de estudos como o de Noh e seus colaboradores, em 2013, em que foram medidos os níveis de TNF- $\alpha$  através do método ELISA em doentes com periodontite, sendo que os níveis deste mediador inflamatório encontravam-se elevados, assim como os da IL-6. Engebretson,

Chertog, Nichols, Celenti & Plasma (2007) também obtiveram níveis mais elevados de TNF- $\alpha$  em doentes com periodontite crónica e em doentes com diabetes tipo 2 relativamente a doentes saudáveis. Sexton Wm *et al* (2011) verificou que o TNF- $\alpha$  é uma das várias citocinas que se encontra elevada na periodontite e cujos níveis diminuem com o tratamento da doença. Ebersole *et al* (2013) comparou os níveis de TNF- $\alpha$  em doentes com periodontite que se encontravam mais elevados relativamente a doentes saudáveis, mas não de forma significativa.

Relativamente aos níveis de IL-6, constatou-se haver normalidade nos 4 grupos em estudo e através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk confirmou-se a relação entre os mesmos e homogeneidade de variâncias. Realizou-se o teste ANOVA que, devido à amostra ser reduzida, demonstrou não existir significância de valores dentro de cada grupo, apenas entre grupos. Os valores de IL-6 foram mais baixos no grupo de controlo e mais elevados no grupo de Periodontite (14,22 vs 23,99), não havendo significância estatística,  $p = 0,161$ .

Os níveis de IL-6 foram elevados em doentes do grupo A (obesidade e periodontite) e em doentes do grupo C (periodontite), em relação ao grupo D (controlo). Os níveis de IL-6 foram mais elevados na presença de doença periodontal do que em doentes com obesidade, não podendo ser considerada um marcador específico da periodontite devido à ausência de significância estatística.

Outros autores (Mella *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2011; Ebersole *et al.*, 2013; Noh *et al.*, 2013; Prakasam & Srinivasan, 2014) obtiveram resultados idênticos e chegaram também à conclusão que a IL-6 é um marcador que se tem mostrado mais específico da doença periodontal do que da obesidade, sendo uma citocina expressada no tecido gengival e cujos valores se encontram elevados em indivíduos com doença periodontal (Noh *et al.*, 2013).

No presente estudo, não se obtiveram níveis superiores de IL-6 em indivíduos obesos relativamente a não-obesos ao contrário de Goyal e seus colaboradores, em 2012 que obtiveram valores mais elevados de IL-6 em indivíduos obesos relativamente a não-obesos, assim como Schober e seus colaboradores, em 2007. Este fato pode dever-se à medição das citocinas ter sido ao nível do soro sanguíneo nos estudos referidos, dado que a restante metodologia e tamanho da amostra foram semelhantes.

Nenhum estudo foi encontrado de forma a se poder discutir os resultados obtidos nas correlações relativas ao grupo A (doentes com obesidade e periodontite), dado que em nenhum foi estabelecida uma correlação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e as variáveis em estudo (IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade) em doentes que apresentem estas duas doenças em simultâneo.

Nos grupos A (doentes com obesidade e periodontite), B (doentes com obesidade) e C (doentes com periodontite) obteve-se uma correlação positiva, mas fraca e sem significância estatística entre os níveis dos mediadores inflamatórios estudados e o IMC, devido ao tamanho reduzido da amostra. Este fato, em conjunto com o descrito por outros autores, sugere que os níveis dos mediadores inflamatórios tendem a aumentar com o IMC e a diminuir com a redução do peso, havendo um decréscimo na expressão dos marcadores do TAB e um aumento concomitante da expressão de moléculas com propriedades anti-inflamatórias (Clément *et al.*, 2004). Saxlin T *et al* (2009) também encontrou uma relação positiva entre os níveis de IL-6 e de TNF- $\alpha$  e o IMC em doentes com obesidade e periodontite e saudáveis, embora os mesmos tenham sido agrupados de forma diferente deste estudo. Outros biomarcadores como a PCR também apresentam valores mais elevados com o aumento do IMC (Gallagher *et al.*, 1996; Brasil *et al.*, 2007). Esta relação permite inferir que o tecido adiposo pode contribuir para a elevação da secreção destas moléculas em doentes obesos, podendo haver decréscimo dos níveis das mesmas por perda de peso devido a tratamento médico ou cirúrgico (Clément *et al.*, 2004).

Não se verificou uma correlação significativa dos níveis das citocinas com o IPC e PIP nos doentes com obesidade e periodontite, o que contraria outros estudos em que foi encontrada uma relação entre o PIP e a IL-6, mas não com o TNF- $\alpha$  (Saxlin *et al.*, 2009).

Em doentes com obesidade não foi obtida correlação significativa entre os níveis das citocinas estudadas e o IMC e o perímetro da cintura. Park *et al* (2005) também não teve significância estatística entre o TNF- $\alpha$  e estas duas variáveis antropométricas, mas encontrou para o IL-6, o que se encontra de acordo com o resultado de outras investigações (Mohamed-Ali, Pinkney & Coppack, 1998; Rexrode *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Schober *et al.*, 2007).

Os níveis de TNF- $\alpha$  diminuíram significativamente com o aumento da idade nos doentes do grupo A (obesidade e periodontite) e do grupo B (obesidade), não tendo sido

encontrados outros estudos que comparassem estas duas variáveis nestes doentes. Rexrode *et al* (2003) verificou que a IL-6 não mostrou relação com a idade tanto nos doentes que apresentam níveis normais como elevados desta citocina.

Nos doentes com periodontite, foi obtida uma correlação positiva, mas fraca entre os níveis de TNF- $\alpha$  e de IL-6, enquanto Noh e seus colaboradores, em 2013, não obtiveram correlação dos níveis entre estes dois mediadores nestes doentes. Também neste grupo não houve significância estatística entre os níveis de IL-6 e o IMC e a idade, o que se encontra de acordo com o estudo de Prakasam e seus colaboradores, em 2014. Noutro estudo realizado em 94 doentes com periodontite, foi encontrada significância estatística entre os níveis de IL-6 e a idade dos indivíduos (D'Aiuto *et al.*, 2004).

Neste grupo de doentes (grupo C) não se obteve uma correlação significativa entre os níveis de IL-6 e os valores de IPC, tal como no estudo de Rathnayake e seus colaboradores, em 2013. Noutro estudo, com uma amostra maior (1131 indivíduos) a IL-6 encontrava-se significativamente mais elevada em pacientes com doença periodontal mais extensa, com profundidades de sondagem maiores (Bretz *et al.*, 2005) e maiores perdas de inserção periodontal, podendo a severidade da periodontite estar associada a níveis mais elevados de IL-6 (Moreira *et al.*, 2007).

Não foram encontradas correlações significativas entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e os valores de IPC e PIP neste grupo de doentes. Engebretson e seus colaboradores, em 2007 observaram que em doentes com periodontite crónica e diabetes tipo 2 os níveis de TNF- $\alpha$  apresentaram uma correlação positiva e significativa com a perda de inserção. Níveis plasmáticos mais elevados de TNF- $\alpha$  encontram-se significativamente associados com a extensão da doença periodontal e com o aumento do número de dentes ausentes devido à mesma (Bretz *et al.*, 2005).

A idade também não apresentou correlação com os níveis dos mediadores inflamatórios no grupo de doentes com periodontite, no presente estudo, apresentando uma fraca influência nos níveis destas substâncias (Rathnayake *et al.*, 2013b). De notar, que os indivíduos idosos tendem a ter uma maior composição de gordura corporal, havendo o risco de os valores de IMC serem menos precisos quanto maior for a idade dos indivíduos, nomeadamente, acima dos 65 anos (Pischon *et al.*, 2007).

Não foram discutidos os resultados respeitantes ao grupo controlo, dado que este serviu de termo de comparação com os restantes grupos que compunham a amostra deste estudo.

Não houve significância estatística entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e o género nos 4 grupos da amostra. Peters *et al* (2013) obteve níveis mais elevados de IL-6 nos indivíduos do sexo feminino, estando de acordo com resultados obtidos para este marcador em específico, embora sem significância estatística, como anteriormente referido.

Os níveis dos mediadores inflamatórios poderão ter sido enviesados pelo fato de para um mesmo valor de IMC, o sexo feminino apresentar maior quantidade de gordura corporal que o sexo masculino (Gallagher *et al.*, 1996). Para um mesmo IMC, indivíduos do sexo feminino tendem a apresentar níveis mais elevados de mediadores inflamatórios, interferindo na associação entre os níveis dos mediadores e o género.

Apesar de não ser um dos objetivos principais deste estudo, existem alguns resultados relativamente às correlações entre as variáveis IMC, perímetro da cintura, IPC e PIP que merecem ser discutidos.

No grupo A (doentes com obesidade e periodontite) obteve-se uma correlação significativa, positiva e elevada entre o perímetro da cintura e o PIP, o que vai de encontro com resultados de estudos previamente realizados em doentes com estas duas doenças inflamatórias (Chitsazi & Zenouz, 2008; Amin, 2010).

No grupo D (controlo) as variáveis antropométricas (IMC e perímetro da cintura) aumentaram com a idade de forma significativa, sugerindo que o indivíduo idoso tende a ter uma maior quantidade de gordura corporal tanto geral como visceral (Pischon *et al.*, 2007).

A limitação deste estudo prendeu-se com o fato do número da amostra ser de 40 doentes (n=40), ou seja, cada grupo dos quatro em que os doentes foram divididos era apenas constituído por 10 indivíduos (n=10). Este fator mostrou ser uma condicionante na análise estatística, fazendo com que muitos dos resultados não apresentassem significância estatística devido ao reduzido número de indivíduos que constituíram a amostra.

## **Análise da metodologia utilizada**

Não deve ser excluída a possibilidade da existência de outros mediadores inflamatórios produzidos pelo tecido adiposo que possam mediar a associação entre a obesidade e a doença periodontal, dado que neste estudo foram apenas estudados o TNF- $\alpha$  e a IL-6.

Como os dados antropométricos e clínicos foram obtidos em simultâneo, não é claro se a obesidade precedeu a doença periodontal ou vice-versa, não se podendo obter uma relação temporal entre as duas doenças, no entanto, este estudo apresenta uma componente observacional que permite realizar associações e correlações entre as mesmas.

No que respeita à obesidade, o método a que se recorre para a sua classificação e avaliação é o da medição do IMC na maioria dos estudos realizados (Visser *et al.*, 1999; Rexrode *et al.*, 2003; D'Aiuto *et al.*, 2004; Park, Park, & Yu, 2005; Brasil *et al.*, 2007; Ylöstalo *et al.*, 2008; Veigas *et al.*, 2012; Peters, Ghouri, Mckeigue, Forouhi & Sattar, 2013), sendo que se optou também neste estudo por se complementar a medição da obesidade com o cálculo do perímetro da cintura (Rexrode *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Amin, 2010; Veigas *et al.*, 2012; Peters *et al.*, 2013), permitindo assim a medição do tecido adiposo a nível abdominal (Amin, 2010) e avaliar a distribuição da gordura corporal, o que não acontece com o IMC (Pischon *et al.*, 2007). O perímetro da cintura permite ainda correlacionar o tecido adiposo visceral, dado que é metabolicamente mais ativo e liberta maiores quantidades de citocinas e hormonas em comparação com o tecido adiposo subcutâneo (Berg & Scherer, 2005; Pischon *et al.*, 2007). De salientar que alguns estudos referem mesmo que o perímetro da cintura pode ser um melhor preditor de risco de doença que o IMC (Pischon *et al.*, 2007).

Também no presente estudo os níveis dos mediadores inflamatórios poderão ter sido enviesados pelo fato de para um mesmo valor de IMC, o sexo feminino apresentar maior quantidade de gordura corporal que o sexo masculino (Gallagher *et al.*, 1996). Indivíduos idosos também tendem a ter uma maior composição de gordura corporal, havendo o risco de os valores de IMC serem menos precisos quanto maior for a idade dos indivíduos, nomeadamente acima dos 65 anos (Pischon *et al.*, 2007). Ainda relativamente à idade, as alterações imunitárias que surgem com o envelhecimento podem afetar a resposta dada pela imunidade inata e adaptativa, que podem levar a condições crónicas orais inflamatórias, logo podem afetar os níveis dos biomarcadores (Hajishengallis, 2011).

Para caracterização da doença periodontal recorreu-se ao IPC e PIP, sendo estes os índices previstos para que seja possível uma padronização de métodos e protocolos a nível comunitário nos estudos clínicos realizados (Bourgeois *et al.*, 2008). O IPC mede a severidade da doença periodontal que se encontra ativa, enquanto o PIP reflete a experiência acumulada ao longo do tempo pela doença periodontal e a destruição dos tecidos de suporte do dente e do osso alveolar. Estima-se que o IPC tenha um impacto maior na inflamação sistémica relativamente ao PIP, sendo mais recomendado para investigar a associação entre a periodontite e os marcadores de inflamação sistémica (Gocke *et al.*, 2014). Contudo, outros estudos que também mediram a doença periodontal utilizaram outras metodologias para medição da mesma (Ylöstalo *et al.*, 2008; Kinney *et al.*, 2011b; Rathnayake *et al.*, 2013b; Salminen *et al.*, 2014), podendo, deste modo, ser também uma razão para a eventual variação nos resultados obtidos comparativamente com outros estudos.

A maioria dos estudos procura uma relação entre a obesidade e a doença periodontal, mas apenas do ponto de vista observacional, não fazendo uma comparação dos níveis de mediadores inflamatórios em doentes com estas doenças (Ylöstalo *et al.*, 2008; Amin, 2010; Chopra *et al.*, 2013; Palle *et al.*, 2013; Ekuni *et al.*, 2014). Por outro lado, outros estudos medem os mediadores inflamatórios mas apenas numa destas duas doenças inflamatórias: na obesidade (Rexrode *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Goyal, Faizy, Siddiqui & Singhai, 2012; Peters *et al.*, 2013) ou na doença periodontal (D'Aiuto *et al.*, 2004; Kinney *et al.*, 2011b; Sexton Wm *et al.*, 2011; Noh *et al.*, 2013; Rathnayake *et al.*, 2013; Duarte *et al.*, 2014; Prakasam & Srinivasan, 2014).

A medição das citoquinas, na maioria dos estudos, é realizada a nível sanguíneo através de soro recolhido e não através da saliva, metodologia usada no presente estudo, sendo que os níveis obtidos podem também variar por esse motivo. Por exemplo, os níveis de IL-6 encontram-se 3 a 4 vezes mais elevados na saliva do que no soro (Sharma *et al.*, 2011) e a variabilidade dos níveis destas moléculas na saliva é considerada maior relativamente ao soro (Chiappin, Antonelli, Gatti & De Palo, 2007).

Apesar da definição *a priori* dos fatores de inclusão e exclusão do estudo, é importante ter presente que outras condições sistémicas e outros fatores não mencionados podem também alterar os níveis dos biomarcadores salivares individualmente, dado que os níveis das citoquinas sofrem facilmente variações (Salminen *et al.*, 2014).



## V – Conclusões

Através da realização deste estudo, foi possível confirmar que os mediadores inflamatórios, neste caso específico o TNF- $\alpha$  e a IL-6, encontram-se aumentados na presença de doenças inflamatórias como a obesidade e a doença periodontal.

Contudo, o TNF- $\alpha$  apresentou níveis elevados na presença tanto da obesidade como da doença periodontal, não se podendo considerar um marcador específico de uma destas doenças, dado que os resultados não foram estatisticamente significativos.

No entanto, a IL-6 em doentes com doença periodontal pareceu encontrar-se em níveis mais elevados comparativamente aos doentes com obesidade, obesidade e periodontite e do grupo controlo. Logo, neste estudo, a IL-6 encontrava-se com valores mais elevados na presença da doença periodontal, não se podendo considerar um marcador específico desta doença, dado que os resultados obtidos não tiveram significância estatística.

Foi ainda demonstrado que em doentes com obesidade e periodontite e em doentes apenas com obesidade, os níveis de TNF- $\alpha$  tendem a diminuir com a idade de forma significativa.

Os resultados obtidos reforçam a importância da monitorização dos mediadores inflamatórios que podemos encontrar na saliva, podendo a sua medição ser um importante meio complementar de diagnóstico e um indicador da associação de doenças inflamatórias entre si, como neste caso a obesidade e doença periodontal. De salientar que estas duas doenças parecem contribuir para um estado de inflamação a nível sistémico, reforçando a necessidade do médico dentista estar atento a patologias sistémicas, que com a associação demonstrada podem interferir na terapêutica de doenças orais, de que é exemplo a doença periodontal.

Por conseguinte, é necessária a realização de estudos futuros com amostras maiores que possam fornecer uma melhor compreensão acerca da função destes dois marcadores inflamatórios na associação entre a obesidade e a doença periodontal.



## VI – Bibliografia

- Amin, H. E.-S. (2010). Relationship between overall and abdominal obesity and periodontal disease among young adults. *Eastern Mediterranean Health Journal = La Revue de Santé de La Méditerranée Orientale = Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit*, 16(4), 429–33. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20795429>
- Andrade, P. P. De, Paraíso, D. P., Souza, E. L. de, Freitas, R. de A., & Galvão, H. C. (2007). Saliva: Métodos Atuais para Coleta e Obtenção da Amostra . Saliva: Current Methods For Collection And Attainment Of The Sample., 95–98.
- Arias, J.-I., Aller, M.-A., Sánchez-Patan, F., & Arias, J. (2006). Inflammation and cancer: is trophism the link? *Surgical Oncology*, 15(4), 235–42. doi:10.1016/j.suronc.2007.02.001
- Balistreri, C. R., Caruso, C., & Candore, G. (2010). The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators of Inflammation*, 2010, 802078. doi:10.1155/2010/802078
- Banks, R. E., Forbes, M. A., Storr, M., Higginson, J., Thompson, D., Raynes, J., ... Whicher, J. T. (1995). The acute phase protein response in patients receiving subcutaneous IL-6, 217–223.
- Bastos, A. A., Falcão, C. B., Pereira, A. L. A., Pereira A. F. V., Alves C. M. C. (2005). Obesity and periodontal disease. *Pesquisa Brasileira Odontopediatria Clínica Integrada*, 275–279.
- Berg, A. H., & Scherer, P. E. (2005). Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease, 939–949. doi:10.1161/01.RES.0000163635.62927.34
- Bourgeois, D. M., Lhodra, J. C., Christensen L. B., Ottolenghi L., Pitts, N. B., Senekola, E. (2008). *Health Surveillance in Europe Oral Health Interviews and Clinical Surveys*

- Brailo, V., Vucicevic-Boras, V., Lukac, J., Biocina-Lukenda, D., Alajbeg-Zilic, I., Milenovic, A., & Balijs, M. (2012). Salivary and serum interleukin 1 beta, interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with leukoplakia and oral cancer. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugia Bucal*, 17(1), e10–e15. doi:10.4317/medoral.17323
- Brasil, A. R., Norton, R. C., Rossetti, M. B., Leão, E., & Mendes, R. P. (2007). C-reactive protein as an indicator of low intensity inflammation in children and adolescents with and without obesity. *Jornal de Pediatria*, 83(5), 477–80. doi:10.2223/JPED.1690
- Bretz, W. A., Weyant, R. J., Corby, P. M., Ren, D., Weissfeld, L., Kritchevsky, S. B., ... Newman, A. B. (2005). Systemic Inflammatory Markers , Periodontal Diseases , and Periodontal Infections in an Elderly Population. doi:10.1111/j.1532-5415.2005.53468.x
- Cancello, R., & Clément, K. (2006). Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 113(10), 1141–7. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01004.x
- Chawla, Nguyen, & Goh. (2012). Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease *NIH Public Access*, 11(11), 738–749. doi:10.1038/nri3071.
- Chiappin, S., Antonelli, G., Gatti, R., & De Palo, E. F. (2007). Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 383(1-2), 30–40. doi:10.1016/j.cca.2007.04.011
- Chitsazi, M. T., Pourabbas, R., Shirmohammadi, A., Zenouz A., & Vatankhah, A. (2008). Association of Periodontal Diseases with Elevation of Serum C-reactive Protein and Body Mass Index, 2(1), 9–14.
- Chopra, A., Gupta, N., Lakhanpal, M., Rao, N., & Vashisth, S. (2013). Association between obesity and periodontal disease: A cross-sectional study. *Saudi Journal of Obesity*, 1(2), 71. doi:10.4103/2347-2618.128634

- Christodoulides, N., Floriano, P. N., & Miller, C. S. . (2007). Lab-on-a-chip methods for point-of- care measurements of salivary biomarkers of periodontitis, 16803.
- Clément, K., Viguerie, N., Poitou, C., Carette, C., Pelloux, V., Curat, C. A., ... Langin, D. (2004). Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(14), 1657–69. doi:10.1096/fj.04-2204com
- D'Aiuto, F., Parkar, M., Andreou, G., Suvan, J., Brett, P. M., Ready, D., & Tonetti, M. S. (2004). Periodontitis and Systemic Inflammation: Control of the Local Infection is Associated with a Reduction in Serum Inflammatory Markers. *Journal of Dental Research*, 83(2), 156–160. doi:10.1177/154405910408300214
- Dahiya, P., Kamal, R., & Gupta, R. (2012). Obesity, periodontal and general health: Relationship and management. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(1), 88–93. doi:10.4103/2230-8210.91200
- Das, U. N. (2001). Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 17(11-12), 953–66. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22722429>
- De Araújo Navas, E. A. F., Sato, E. I., Pereira, D. F. A., Back-Brito, G. N., Ishikawa, J. A., Jorge, A. O. C., ... Koga-Ito, C. Y. (2012). Oral microbial colonization in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with treatment and disease activity. *Lupus*, 21(9), 969–77. doi:10.1177/0961203312443420
- Denis, G. V., & Obin, M. S. (2014). "Metabolically healthy obesity": origins and implications, 34(1), 59–70. doi:10.1016/j.mam.2012.10.004.
- Duarte, P. M., Bezerra, J. P., Miranda, T. S., Feres, M., Chambrone, L., & Shaddox, L. M. (2014). Local levels of inflammatory mediators in uncontrolled type 2 diabetic subjects with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(1), 11–8. doi:10.1111/jcpe.12179

- Ebersole, J. L., Schuster, J. L., Stevens, J., III, D. D., Kryscio, R. J., Lin, Y., ... Miller, C. S. (2013). Patterns of Salivary Analytes Provide Diagnostic Capacity for Distinguishing Chronic Adult Periodontitis from Health. *Journal of Clinical Immunology*, 271–279. doi:10.1007/s10875-012-9771-3
- Ekuni, D., Mizutani, S., Kojima, A., Tomofuji, T., Irie, K., Azuma, T., ..., Morita M. (2014). Relationship between increases in BMI and changes in periodontal status: a prospective cohort study. *Journal of Clinical Periodontology*, 772–778. doi:10.1111/jcpe.12273
- Engelbrecht, S., Chertog, R., Nichols, A., Hey-Hadavi J., Celenti, R., & Grbic J. (2007). Plasma levels of tumour necrosis factor- $\alpha$  in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes, 18–24. *Journal of Clinical Periodontology*, 18-24. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.01017.x
- Erciyas, K., Pehlivan S., Sever T., Igci M., Arslan A., & Orbak R. (2010). Association between TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-10, IL-6 and IFN- $\gamma$  gene polymorphisms and generalized aggressive periodontitis. *Clinical and Investigative Medicine*, 33(2), 85–92.
- Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(5), 911–9; quiz 920. doi:10.1016/j.jaci.2005.02.023
- Fonseca-Alaniz, M. H., Takada, J., Alonso-Vale, M. I. C., & Lima, F. B. (2007). Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *Jornal de Pediatria*, 83, 192–203. doi:10.2223/JPED.1709
- Gallagher, D., Visser, M., Sepulveda, D., Pierson, R. N., Harris, T., & Heymsfield, S. B. (1996). How Useful Is Body Mass Index for Comparison of Body Fatness across Age , Sex , and Ethnic Groups ? *American Journal of Epidemiology*, 143(3), 228–239.
- George, M. (2013). Avaliação antropométrica no adulto. *Orientação da Direção-Geral da Saúde*, 1–9.

- Gocke, C., Holtfreter, B., Meisel, P., Grotevendt, A., Jablonowski, L., Nauck, M., ... Kocher, T. (2014). Abdominal obesity modifies long-term associations between periodontitis and markers of systemic inflammation. *Atherosclerosis*, 235(2), 351–357. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.05.926
- Goyal, R., Faizy, A. F., Siddiqui, S. S., & Singhai, M. (2012). Evaluation of TNF- $\alpha$  and IL-6 Levels in Obese and Non-obese Diabetics : Pre- and Postinsulin Effects. *North American Journal of Medical Sciences*, 4(4), 180–184. doi:10.4103/1947-2714.94944
- Guimarães, D. E. D., Sardinha, F. L. C., Mizurini, D. M., & Carmo, M. G. T. (2007). Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo Adipokines: a new view of adipose tissue. *Revista Nutrição Campinas*, 20(5), 549–559.
- Hajishengallis, G. (2011). Too old to fight? Aging and its Toll on innate immunity. *NIH Public Access*, 25(1), 25–37. doi:10.1111/j.2041-1014.2009.00562.x.Too
- Juge-Aubry, C. E., Henrichot, E., & Meier, C. A. (2005). Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 19(4), 547–66. doi:10.1016/j.beem.2005.07.009
- Karelis, A. D., Faraj, M., Bastard, J.-P., St-Pierre, D. H., Brochu, M., Prud'homme, D., & Rabasa-Lhoret, R. (2005). The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(7), 4145–50. doi:10.1210/jc.2005-0482
- Kinney, J. S., Morelli, T., Braun, T., Ramseier, C. A., Herr, A. E., Sugai, J. V., ... Giannobile, W. V. (2011). Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *Journal of Dental Research*, 90(6), 752–758. doi:10.1177/0022034511399908
- Lee, H., Lee, I. S., & Choue, R. (2013). Obesity, Inflammation and Diet. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, 16(3), 143–152. doi:10.5223/pghn.2013.16.3.143

- Lee, Y.-H., & Pratley, R. E. (2005). The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Current Diabetes Reports*, 5(1), 70–5. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15663921>
- Leite, L. D., Rocha, E. D. M., Brandão-Neto, J. (2009). Obesidade: uma doença inflamatória. Obesity: an inflammatory disease, *Revista Ciência & Saúde*, 85–95.
- Leppilahti, J., Ahonen, M.-M., Hernández, M., Munjal, S., Netuschil, L., Uitto V. -J., ... Mäntilä, P (2010). Oral rinse MPP-8 point-of-care test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden. doi:10.1111/j.1601-0825.2010.01716.x
- Lumeng, C. N., & Saltiel, A. R. (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2111–2117. doi:10.1172/JCI57132.In
- Martí, A., Marcos, A., & Martínez, J. A. (2001). Obesity and immune function relationships. *Obesity Reviews : An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 2(2), 131–40. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12119664>
- Mella, S., Inostroza, C., Sanz A., Quintero, A., Illanes, S., Carrión F., ..., Chaparro A. (2011). Asociación entre periodontitis crónica , interleuquina-6 (IL-6) e índice de masa corporal (IMC) en embarazadas. Association between chronic periodontitis, interleukin-6 and body mass index (BMI) in pregnant women. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 4(Imc), 97–101.
- Mohamed-Ali V., Pinkney, J. H., & Coppack, S. W. (1998). Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *International Journal of Obesity*, 1145-1158
- Moreira, P. R., Lima, P. M. A., Sathler, K. O. B., Imanishi, S. A. W., Costa, J. E., Gomez, R. S., ... Dutra, W. O. (2007). Interleukin- 6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *British Society for immunology, Clinical and Experimental Immunology* 119–126. doi:10.1111/j.1365-2249.2007.03327.x

- Nguyen, X. T., Lane, J., Smith, B. R., & Nguyen, N. T. (2009). Changes in Inflammatory Biomarkers Across Weight Classes in a Representative US Population : A Link Between Obesity and Inflammation, 1205–1212. doi:10.1007/s11605-009-0904-9
- Noh, M. K., Jung, M., Kim, S. H., Lee, S. R., Park, K. H., Kim, D. H., ... Park, Y. G. (2013). Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 6(3), 847–851. doi:10.3892/etm.2013.1222
- Normalizado, P. O. (2011). Colheita e transporte de amostra de sangue, 2–5.
- Palle, A. R., Sanjeeva, C. M., Reddy, K., Shankar, B. S., Gelli, V., & Sudhakar, J. (2013). Association between Obesity and Chronic Periodontitis : A Cross-sectional Study, *Journal of Contemporary Dental Practice*, 168–173.
- Park, H. S., Park, J. Y., & Yu, R. (2005). Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF- $\alpha$  and IL-6. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 69(1), 29–35. doi:10.1016/j.diabres.2004.11.007
- Peters, M. J. L., Ghouri, N., Mckeigue, P., Forouhi, N. G., & Sattar, N. (2013). Circulating IL-6 concentrations and associated anthropometric and metabolic parameters in South Asian men and women in comparison to European whites. *Cytokine*, 61(1), 29–32. doi:10.1016/j.cyto.2012.09.002
- Pischon, N., Heng, N., Bernimoulin, J.-P., Kleber, B.-M., Willich, S. N., & Pischon, T. (2007). Obesity, Inflammation, and Periodontal Disease. *Journal of Dental Research*, 86(5), 400–409. doi:10.1177/154405910708600503
- Prado, W., Lofrano M., Oyama L., Dâmaso A. (2009). Obesidade e Adipocinas Inflamatórias : Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício. *Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte*, 15(1999), 378–383.
- Prakasam, S., & Srinivasan, M. (2014). Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. *Oral Diseases*, 20(2), 171–7. doi:10.1111/odi.12085

- Prpić, J., Kuis, D., & Pezelj-Ribarić, S. (2012). Obesity and oral health - is there an association? *Collegium Antropologicum*, 36(3), 755–759. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23213928>
- Ramos, E. J. B., Xu, Y., Romanova, I., Middleton, F., Chen, C., Quinn, R., ... Meguid, M. M. (2003). Is obesity an inflammatory disease? *Surgery*, 134(2), 329–35. doi:10.1067/msy.2003.267
- Rathnayake, N., Akerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., ... Gustafsson, A. (2013a). Salivary biomarkers for detection of systemic diseases. *PloS One*, 8(4), e61356. doi:10.1371/journal.pone.0061356
- Rathnayake, N., Akerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., ... Gustafsson, A. (2013b). Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(2), 140–7. doi:10.1111/jcpe.12038
- Rexrode, K. M., Pradhan, A., Manson, J. E., Ph, D. R., Buring, J. E., & Ridker, P. M. (2003). Relationship of Total and Abdominal Adiposity with CRP and IL-6 in Women, 2797(03). doi:10.1016/S1047-2797(03)00053-X
- Salminen, A., Gursoy, U. K., Paju, S., Hyvärinen, K., Mäntylä, P., Buhlin, K., ... Pussinen, P. J. (2014). Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 442–450. doi:10.1111/jcpe.12234
- Saxlin T, Suominen-Taipale L, Leiviskä J, Jula A, Knuuttila M, Y. P., Ylöstalo, P. (2009). Role of serum cytokines tumour necrosis factor-  $\alpha$  and interleukin- 6 in the association between body weight and periodontal infection, *Journal of Clinical Periodontology*, 100–105. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01350
- Schober, F., Neumeier, M., Weigert, J., Wurm, S., Wanninger, J., Schäffler, A., ... Buechler, C. (2007). Low molecular weight adiponectin negatively correlates with the waist circumference and monocytic IL-6 release, 361, 968–973. doi:10.1016/j.bbrc.2007.07.106

- Sexton, W. M., Lin, Y., Kryscio, R. J., Dawson, III, Ebersole, J. L., Miller, C. S., & Kryscio, R. J. (2011). Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *The Journal of Clinical Investigation*, 434–441. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01706.x
- Sharma, M., Bairy, I., Pai, K., Satyamoorthy, K., Prasad, S., Berkovitz, B., Radakrishnan, R. (2011). Salivary IL-6 levels in oral leukoplakia with dysplasia and its clinical relevance to tobacco habits and periodontitis, *Clinical Oral Investigations*, 705–714. doi:10.1007/s00784-010-0435-5
- Suvan, J., D’Aiuto, F., Moles, D. R., Petrie, A., & Donos, N. (2011). Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obesity Reviews : An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 12(5), e381–e404. doi:10.1111/j.1467-789X.2010.00808.x
- Tchernof, A., Nolan, A., Sites, C. K., Ades, P. A., & Poehlman, E. T. (2002). Weight Loss Reduces C-Reactive Protein Levels in Obese Postmenopausal Women. *Journal of the American Heart Association*, 564–569. doi:10.1161/hc0502.103331
- Teles, R. P., Likhari, V., Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2010). Salivary citoquine levels in Chronic Periodontitis and Periodontally Healthy Subjects. A cross-sectional study. *NIH Public Access*, 44(3), 411–417. doi:10.1111/j.1600-0765.2008.01119.x.Salivary
- Veigas, L., Pereira P., Vicente F., Mesquita, M. F. (2012). Overweight, Obesity and Abdominal Adiposity Effects in Inflammatory Proteins: C-reactive Protein and Fibrinogen. *Journal of Medical Science*, 12(3), 70-77. doi: 10.3923/jms.2012.70.77
- Visser, M., Bouter, L. M., Mcquillan, G. M., Wener, M. H., & Harris, T. B. (1999). Elevated C-Reactive Protein Levels. *Journal of American Medical Association*.
- Volp, A., Alfenas R., Costa, N., Minim V., Stringueta P., & Bressan, J. (2008). Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica*.

- Weiss, T. W., Seljeflot, I., Hjerkind, E. M., & Arnesen, H. (2011). Adipose tissue pro-inflammatory gene expression is associated with cardiovascular disease, *The international Journal of clinical practice* (September), 939–944. doi:10.1111/j.1742-1241.2011.02717.x
- Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. (2003). Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue, *112*(12), 1785–1788. doi:10.1172/JCI200320514.Obesity
- Ylöstalo, P., Suominen-Taipale, L., Reunanen, A., & Knuuttila, M. (2008). Association between body weight and periodontal infection. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(4), 297–304. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01203.x
- Zhu, M., & Nikolajczyk, B. S. (2014). Immune Cells Link Obesity-associated Type 2 Diabetes and Periodontitis. *Journal of Dental Research*, 93(4), 346–52. doi:10.1177/0022034513518943

## **VII - Anexos**

### **FOLHA DE INFORMAÇÃO AO DOENTE**

**Por favor leia atentamente,**

Ricardo Manuel Dias Cachinho, aluno finalista do Mestrado Integrado em Medicina Dentária no Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, vem por este meio solicitar a sua participação na realização de um trabalho de investigação no âmbito da disciplina de Orientação Tutorial de Projeto Final. O Projeto Final tem como tema “Mediadores inflamatórios na saliva: associação entre obesidade e doença periodontal”, sendo orientado pela Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita e coorientado pela Doutora Ana Cristina Manso, docentes do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

Será efetuada a sua História Clínica e aplicado um questionário (o mesmo demorará a responder cerca de 10 minutos).

Será realizado um exame clínico onde se determinará o Índice Periodontal Comunitário, a Perda de Inserção Periodontal, o IMC, a taxa de fluxo salivar não-estimulado e se recolherá saliva para medir os mediadores inflamatórios de interesse, que na mesma estão presentes. Estes exames clínicos de fácil execução, indolores e não invasivos, terão uma duração aproximada de 30min, na sua execução.

Os resultados obtidos serão alvo de análise estatística, sendo que os dados pessoais nunca serão revelados.

Se decidir participar ser-lhe-á entregue uma folha de consentimento informado, que deverá ler com atenção e assinar. A sua participação é voluntária, podendo desistir a qualquer momento. Serão ainda fornecidas outro tipo de informações, diretamente relacionadas com o horário de recolha de dados e com instruções prévias à mesma.

É muito importante a sua colaboração, neste estudo.

Para qualquer esclarecimento adicional, contacte o docente responsável através do seguinte n.º de telefone: 21 294 67 08 (Secretaria de docentes);

Agradeço o tempo disponibilizado na leitura deste documento.

*Pela Equipa de Investigação*

*Ana Cristina Manso*



## Consentimento Informado

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO (N.º \_\_\_\_)

Monte de Caparica, \_\_ (dia), \_\_ (mês) \_\_\_\_ (ano)

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do 5º ano do **Mestrado Integrado em Medicina Dentária (MIMD)** da Unidade Curricular de “**Trabalho de projecto final**” do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz (ISCSEM), sob a Orientação da **Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita** e Co-orientação da **Doutora Ana Cristina Manso** solicita-se a sua autorização para a participação no estudo “**Mediadores inflamatórios na saliva - Associação entre obesidade e doença periodontal**”.

O Estudo irá decorrer nas instalações da CES Egas Moniz, na Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM) e tem como objectivo de:

1. Caracterizar a amostra a nível sociodemográfico;
2. Medir a Obesidade (O), na população adulta da Clínica Universitária Egas Moniz;
3. Medir a Doença Periodontal (DP), na população adulta da Clínica Universitária Egas Moniz;
4. Medir a Taxa de Fluxo salivar estimulado e não estimulado;
5. Avaliar se existe associação entre as variáveis sociodemográficas e a Obesidade;
6. Avaliar se existe associação entre as variáveis sociodemográficas e a Doença Periodontal;
7. Medir mediadores inflamatórios na saliva e verificar se existe associação concomitante com a Obesidade e Doença Periodontal;

**Fui informado de que sou livre de aceitar ou recusar:**

1. a minha participação de resposta à elaboração de uma História Clínica, para o estudo;
2. a minha participação para que me observem e recolham informações clínicas na minha cavidade oral;
3. a minha participação na colheita de saliva, para o estudo;
4. a minha observação para que me recolham medidas antropométricas,

**A fim de esclarecer a minha decisão recebi, e bem compreendi, as informações seguintes:**

1. Todos os dados recolhidos antes durante e após o estudo serão mantidos confidenciais, sendo utilizados somente os que se manifestem essenciais ao estudo em causa; será mantido o meu anonimato, perante os investigadores principais do projeto;
2. O estudo tem como objetivo contribuir de uma forma direta e indireta para a formação do aluno em causa, sendo parte integrante do seu trabalho final de curso, no Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz;
3. Não serão efetuados procedimentos clínicos invasivos ou outros, bastando para isso a recolha de dados através de: a) aplicação de ficha de História clínica e de um questionário sociodemográfico; b) a medição do índice de doença periodontal; c) a medição do peso, altura, perímetro abdominal e outras medidas antropométricas; d) a medição da taxa de fluxo salivar (quantidade de saliva);

Poderei em qualquer momento pedir informação complementar ao investigador e se o desejar, parar a minha participação sem suportar nenhuma responsabilidade;

4. Os resultados dos dados recolhidos serão utilizados com a finalidade de pesquisa médico-dentária e serão tratados e apresentados de forma totalmente anónima;
5. Conservo todos os meus direitos garantidos na lei;
6. O meu consentimento não libera em nada os investigadores responsáveis deste trabalho das suas responsabilidades, no que diz respeito à investigação biológica e ética;

**Deste modo permitirei:**

1. Fornecer um certo número de dados pessoais e clínicos, presentes num formulário preparado para esse fim;
2. Ser observado, na cavidade oral com a finalidade de me ser medido o índice de doença periodontal, e a quantidade de saliva;
3. Ser observado para recolha de medidas antropométricas;
4. Fornecer saliva, para avaliação quantitativa do seu fluxo (através da técnica de saliva estimulada e não estimulada) e avaliação de mediadores inflamatórios presentes na mesma;

**Este estudo pode trazer benefícios tais como:**

Determinar a prevalência da doença Periodontal e da Obesidade, nesta população e compreender a relação que os mediadores inflamatórios têm em ambas as doenças.

Pensamos assim poder contribuir para o estudo do interesse científico e social, que ambas as doenças têm, associando às mesmas mediadores clínicos inflamatórios, já descritos anteriormente, como fatores de risco de ambas. A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo orientado. O Orientando está obrigado ao anonimato e confidencialidade dos sujeitos.

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

---

(Assinatura do participante)

---

(O aluno – Ricardo Cachinho)

---

(A Co-orientadora – Doutora Ana Cristina Manso)



Ex.mo Senhor

Ricardo Manuel Dias Cachinho


Monte de Caparica, 14 de fevereiro de 2014

Ex.mo Senhor,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "*Mediadores inflamatórios na saliva – Associação entre obesidade e doença periodontal*", foi aprovado por unanimidade.

Queira aceitar os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

  
Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

C.C. — Profª. Doutora Fernanda de Mesquita

---

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL  
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica  
2829-511 Caparica

## Protocolo - Índice Periodontal Comunitário

Para a realização do exame a boca é dividida em sextantes (18-14, 13-23, 24-28, 38-34, 33-43, 44-48), utilizando-se a sonda periodontal desenvolvida pela OMS, toda extensão do sulco ou bolsa gengival do dente é examinada. Dez dentes-índices são utilizados no exame parcial de adultos a partir de 20 anos (17, 16, 11, 26, 27, 37, 36, 31, 46, 47).

Todos os dentes do sextante são examinados apenas na ausência dos dentes-índices e o 3º molar só é incluído caso esteja exercendo a função de outro molar

Os seguintes indicadores do estado periodontal são usados para esta avaliação:

- (0) Saúde gengival ;
- (1) Hemorragia gengival
- (2) Presença de cálculo
- (3) Bolsa (4- 5mm) ,
- (4) Bolsa ( 6 mm ou mais)
- (9) Impossível de determinar
- (X) Sextante excluído

(EGOHID II – 2008)

CPI								/ / / / / / /												/ / / / / / /											
PI	V	<div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div>																													

## MÉTODO DE AVALIAÇÃO DE FLUXO SALIVAR

É necessário tomar algumas medidas cautelares no que diz respeito a realização da colheita:

- Pacientes devem ser avisados para que não comam, bebam, mascuem pastilha, façam exercícios, fumem ou escovem os dentes até 2 horas antes da coleta;
- Durante a coleta, o ambiente deve estar bem ventilado e os indivíduos sentados de forma relaxados por 5 minutos
- A primeira amostra deve ser descartada e as subseqüentes serão mantidas em recipientes submersos em gelo

Santos et al., (2007) *"Saliva: Current Methods For Collection And Attainment Of The Sample."* v. 48, n. 1/3, p. 95-98

### Determinação da saliva não estimulada:

- Paciente sentado em posição relaxada
- Evitar qualquer movimento;
- Língua deve apoiar nas superfícies linguais dos incisivos superiores.
- Permanecer com os olhos abertos e o corpo flexionado para frente, pois caso ele feche os olhos e relaxe, haverá uma redução fisiológica do fluxo salivar
- Paciente inclina a cabeça para frente e vai deixando cair a saliva passivamente sem cuspir ou mastigar.

A saliva é recolhida num tubo graduado durante 5 minutos. Os resultados expressam-se em ml/min, existindo amplas variações entre pessoas.

Taxa de secreção **normal**-----0.25-0.35ml/min

Taxa de secreção **baixa**-----0.1-0.25ml/min

### Determinação da saliva estimulada:

- Paciente deve mastigar uma pastilha de parafina estéril de aproximadamente 1gr
- Recolher toda a saliva segregada num tubo graduado durante 5 minutos.
- Descartar a saliva produzida nos dois primeiros minutos e começar a contar a partir desse momento.

O resultado expressa-se em ml/min, e a taxa varia também entre pessoas.

Taxa de secreção **normal**----- > 1 ml/min.

Taxa de secreção **baixa**----- <0.7ml/min.

Fluxo Salivar
Estimulado