



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

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**PESQUISA NA SALIVA DE TNF $\alpha$  EM PACIENTES COM  
GENGIVITE E OBESIDADE INFANTIL**

Trabalho submetido por  
**Rui Miguel Oliveira Gordo**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**Setembro de 2015**



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

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **PESQUISA NA SALIVA DE TNF $\alpha$ EM PACIENTES COM GENGIVITE E OBESIDADE INFANTIL**

Trabalho submetido por  
**Rui Miguel Oliveira Gordo**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

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

e coorientado por  
**Prof. Doutora Irene Ventura**

Setembro de 2015



## **Dedicatória**

Aos meus Pais

e

Avós

Pelo seu sacrifício, ajuda e companheirismo, em todos os momentos,

para me fazer atingir todos os objectivos



## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita, pela orientação, interesse no estudo realizado, ajuda e apoio constantes, que contribuíram para a concretização deste trabalho. Agradeço também tudo o que me ensinou e que levou a fazer de mim um melhor profissional e uma melhor pessoa.

À Prof. Doutora Irene Ventura, pela coorientação, dedicação, disponibilidade e paciência que sempre demonstrou em todos os momentos, e pela motivação que me transmitiu sempre que as coisas não corriam bem.

Às Prof. Dotoras Alexandra Bernardo e Margarida Moncada, pelo auxílio nos procedimentos laboratoriais e interesse sempre demonstrado.

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

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

À Prof. Doutora Luísa Lopes e Mestre António Amaral, do grupo de Odontopediatria da Clínica Universitária Egas Moniz, por permitirem a recolha de dados e amostras dos doentes e por sempre terem suportado a realização deste trabalho.

Aos Mestres António Lucas e Pedro Gerardo, pelo auxílio, paciência e suporte durante a recolha de dados e amostras dos doentes.

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

À Ana Teresa Duarte, pela amizade e sabedoria partilhada, que me fez crescer tanto a nível pessoal e profissional, fazendo da box 29 algo inesquecível. Ao João Botelho e Vanessa Machado, que sempre fizeram os possíveis por me auxiliar e apoiar em todos os momentos. À Nádia Martins e Patrícia Branco, pela cumplicidade especial nestes últimos anos e pelo apoio na elaboração deste trabalho. À Margarida de Carvalho, pelo apoio e suporte quando tudo parecia mais difícil de atingir.

A todos os meus colegas de curso que me acompanharam e apoiaram durante estes 5 anos e cuja amizade foram cruciais para a elaboração deste trabalho de projecto final.



**Resumo:**

**Objectivo:** Quantificar o valor de factor de necrose tumoral- $\alpha$  na saliva humana e verificar se este valor aumenta com a presença de gengivite, de obesidade e de ambas concomitantemente, na população entre os 9 e os 12 anos da consulta de Odontopediatria da Clínica Universitária Egas Moniz.

**Materiais e Métodos:** Foi realizado um estudo observacional, analítico e transversal, efectuado numa amostra de 40 indivíduos, divididos por 4 grupos: Grupo A (n=10) – doentes com obesidade; Grupo B (n=10) – doentes com gengivite; Grupo C (n=10) – doentes com obesidade e gengivite; Grupo D (n=10) – grupo de controlo; Em cada grupo foram recolhidas amostras de saliva não estimulada, onde foram medidos os níveis de TNF $\alpha$  através do método ELISA. A gengivite foi auferida através do Índice de placa de Sillness e Løe. A obesidade foi medida através do Índice de Massa Corporal e do Perímetro de Cintura. A análise estatística foi efectuada com o SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 21 para *Windows* e *MAC OSX*.

**Resultados:** Os doentes com obesidade apresentaram os valores de TNF $\alpha$  mais elevados que os doentes do grupo controlo (26,62 vs 31,68) enquanto que os doentes com gengivite e com ambas as patologias apresentaram valores menores que os do grupo controlo. Em todos a diferença não foi estatisticamente significativa. Doentes com obesidade e gengivite apresentaram uma correlação muito forte e estatisticamente significante entre o Índice de Placa e o valor de TNF $\alpha$  ( $r = 0,801$ ,  $p=0,01$ ).

**Conclusões:** O mediador inflamatório TNF $\alpha$  não demonstrou ser um marcador específico para a obesidade e a gengivite.

**Palavras Chave:** Saliva, Obesidade, Gengivite, Factor de Necrose Tumoral-Alfa



**Abstract:**

**Objectives:** To quantify the amount of tumor necrosis factor-alpha in human saliva and verify that this value increases with the presence of gingivitis, obesity and both concurrently, in the population between 9 and 12 years of the University Clinic Egas Moniz odontopediatrics department.

**Materials and Methods:** We conducted an observational, analytical and cross-sectional study carried out on a sample of 40 individuals, divided into 4 groups: Group A (n = 10) - patients with obesity; Group B (n = 10) - patients with gingivitis; Group C (n = 10) - patients with obesity and gingivitis; Group D (n = 10) - control group; In each group, samples of unstimulated saliva were collected, and TNF $\alpha$  levels were measured by ELISA method. Gingivitis was assessed through the Sillness and Löe plaque index. Obesity was measured by Body Mass Index and waist circumference. Statistical analysis was performed with SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 21 for Windows and MAC OSX.

**Results:** The obese patients showed the TNF $\alpha$  values were higher than the control patients (26.62 vs 31.68) whereas patients with gingivitis and both conditions showed lower values than the control group. In all the difference was not statistically significant. Patients with obesity and gingivitis showed a strong and statistically significant correlation between plaque index and the amount of TNF $\alpha$  in their saliva ( $r = 0.801$ ,  $p = 0.01$ ).

**Conclusions:** TNF $\alpha$  inflammatory mediator did not prove to be a specific marker for obesity and gingivitis.

**Keywords:** Saliva, obesity, gingivitis, Tumor Necrosis Factor-Alpha



## Índice Geral

I - Introdução .....	19
1. Enquadramento teórico .....	19
2. Hipóteses.....	26
II - Materiais e Métodos.....	27
1. Considerações éticas.....	27
2. Tipo de estudo .....	27
3. Local do estudo .....	27
4. Estudo clínico.....	27
4.1. Selecção da amostra.....	27
4.2. Critérios de inclusão.....	29
4.3. Critérios de exclusão .....	30
4.4. Estudo das variáveis.....	32
4.5 Observação clínica .....	32
4.5.1. Índice de massa corporal.....	32
4.5.2. Perímetro da cintura.....	33
4.5.3. Índice de placa de Silness e Løe .....	34
4.5.4. Recolha de Saliva .....	34
5. Conservação das Amostras de Saliva Recolhidas .....	35
6. Identificação das Amostras .....	35
7. Estudo Laboratorial .....	36
7.1. Medição dos níveis de TNF $\alpha$ nas amostras recolhidas de saliva .....	36
8. Base de dados para o registo .....	37
9. Análise Estatística .....	37
III - Resultados .....	39
1. Caracterização da amostra .....	39

1.1. Caracterização dos 4 grupos que acompanham a amostra .....	39
1.2. Género .....	39
1.3. Caracterização Demográfica.....	40
1.4. Idade.....	40
1.5. Caracterização de dados de higiene oral .....	41
1.6. Caracterização de dados de actividade/ingestão alimentar .....	42
1.7. Índice de Placa.....	44
1.8. Altura, peso, IMC, perímetro da cintura e TNF $\alpha$ .....	44
2. Comparação dos níveis de TNF $\alpha$ nos 4 grupos da amostra.....	45
3. Correlação das variáveis TNF $\alpha$ , índice de placa, IMC, perímetro da cintura e idade .....	46
3.1. Obesidade - Grupo A .....	47
3.2. Gengivite - Grupo B.....	48
3.3. Obesidade + Gengivite - Grupo C .....	49
3.4. Controlo - Grupo D.....	50
IV - Discussão .....	51
V - Conclusões.....	59
VI - Bibliografia .....	61
VII - Anexos .....	71

## **Índice de Figuras**

Figura 1 - Gráfico de frequências relativas do género .....	40
Figura 2 - Gráfico de frequências relativas à idade dos participantes .....	41
Figura 3 - Diagrama de extremos e quartis relativo aos níveis de TNF $\alpha$ .....	45
Figura 4 - Gráfico Representativo dos níveis de TNF $\alpha$ nos 4 grupos da amostra .....	46



## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Classificação segundo a OMS do IMC em crianças .....	28
Tabela 2 - Classificação do perímetro da cintura adaptada do Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil .....	28
Tabela 3 - Classificação dos valores de Placa, segundo Silness e Løe.....	29
Tabela 4 - Tabela de Frequências relativas e absolutas da constituição de cada grupo da amostra .....	39
Tabela 5 - Género dos indivíduos que participaram no estudo clínico .....	39
Tabela 6 - Distritos de residência dos participantes no estudo clínico .....	40
Tabela 7 - Idade dos indivíduos participantes no estudo .....	40
Tabela 8 - Frequência de escovagem dos participantes .....	41
Tabela 9 - Frequência de uso de fio dentário (ou semelhante) dos participantes .....	42
Tabela 10 - Tipos de escovagem associados aos participantes .....	42
Tabela 11 - Tabela de actividade física a nível escolar dos participantes .....	43
Tabela 12 - Tabela de actividade física extra-escolar dos participantes .....	43
Tabela 13 - Consumo de bebidas açucaradas pelos participantes .....	43
Tabela 14 - Consumo de alimentos açucarados pelos participantes .....	44
Tabela 15 - Frequências dos valores de placa dos participantes .....	44
Tabela 16 - Estatística descritiva da altura, peso, IMC, perímetro da cintura e TNF $\alpha$ da amostra .....	44
Tabela 17 - Associação dos níveis de TNF $\alpha$ nos 4 grupos da amostra .....	46
Tabela 18 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo A .....	47
Tabela 19 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo B .....	48
Tabela 20 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo C .....	49

Tabela 21 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo D .....	50
--	----

## **Lista de Abreviaturas**

OMS – Organização Mundial de Saúde

IMC – Índice de Massa Corporal

TAB – Tecido Adiposo Branco

TAC – Tecido Adiposo Castanho

IL-6 – Interleucina-6

PAI-1 – Factor Inibidor do Plasminogénio-1

TNF $\alpha$  – Factor de Necrose Tumoral Alfa

MCP-1 – *Monocyte Chemoattractant Protein 1*

GLUT-4 – Transportador de Glucose Tipo 4

IRS-1 – *Insulin receptor substrate 1*

NF $\kappa$ B – *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*

NO – Óxido Nítrico

IDF – *International Diabetes Federation*

HDL – Lipoproteínas de alta Densidade

IP – Índice de Placa



## I – Introdução

### 1. Enquadramento teórico

A sociedade actual apresenta um desequilíbrio populacional. Segundo o Censos 2011, o número de jovens em Portugal recuou de 16% para 15% sendo que o número de idosos aumentou de 16% para 19%. O envelhecimento da população e a perda de população Portuguesa em todos os grupos quinquenais entre os 0 e os 29 anos, confrontamo-nos com a necessidade permitir mais saúde e longevidade às nossas crianças e jovens, sabendo quais os factores de desenvolvimento de determinadas patologias que poderão levar a uma diminuição da esperança de vida relativamente aos seus antepassados.

Uma dessas patologias é a obesidade infantil, cuja prevalência atinge os 65% da população mundial constituindo um dos problemas mais alarmantes de saúde pública mundial, provocando um grande desequilíbrio na relação entre a morte causada por excesso de peso e deficit de peso. (Esteves, 2011; Giordano et al., 2011).

Em Portugal, a prevalência do excesso de peso e da obesidade, observada em vários estudos, em crianças com idades compreendidas entre os 3 e os 14 anos varia, entre os 13 e os 30% para os indivíduos com excesso de peso e entre os 4 e 14% para indivíduos com obesidade (Vasques, Mota, Correia, & Lopes, 2012).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define obesidade / excesso de peso como: *“Acumulações anormais ou excessivas de gordura que poderão prejudicar a saúde”*. A palavra obesidade refere-se a uma condição de etiologia multifactorial causada pelo excesso de tecido adiposo, enquanto que o termo excesso de peso é definido como um *“excesso de peso relativamente à altura”* (Carvalho, Padez, Moreira, & Rosado, 2007; Gajewska, Kalmus, Buraczynska-andrzejewska, & Sobieska, 2014)

A obesidade é, na sua origem, resultado de um deficiente equilíbrio entre a acumulação de energia que produzimos através da alimentação e os gastos de energia que temos diariamente com a nossa actividade física e intelectual (Carvalho et al., 2007). Factores genéticos, metabólicos, hormonais, ambientais, comportamentais e culturais têm interferência e provocam o aumento da prevalência desta patologia. O cada vez maior sedentarismo do Ser Humano, provocado pelas inovações nos meios de transporte, pelo

facilitismo na obtenção de alimentação e pelo estilo de vida cada vez mais restrito à sua habitação.(Esteves, 2011; Silva, 2012)

Existem cada vez mais evidências de que a obesidade está associada a um aumento no risco de incidência de variadas patologias, como a hipertensão arterial, dislipidémia, diabetes tipo 2, apneia do sono, doença coronária, esteatose hepática, gota, embolia pulmonar, depressão, ansiedade crónica e determinados tipos de cancros (Esteves, 2011; Silva, 2012).

Segundo Fields e Demerath “o risco de obesidade nas crianças é fortemente influenciado por factores pré-natais e pós-natais” tais como “factores modificáveis associados à mãe (obesidade, *intakes* alimentares e tabagismo) que vão alterar o apetite, crescimento e composição corporal da criança”. (Fields & Demerath, 2013)

Para além do problema estético que a obesidade pode causar devido às mudanças físicas que ocorrem no indivíduo, nomeadamente, através do aumento do perímetro corporal e índice de massa corporal (IMC), ocorre no indivíduo obeso o aumento do tamanho dos adipócitos presentes no organismo. Estes adipócitos, constituintes essenciais do tecido adiposo de todos os indivíduos, vêm o seu número estabelecido durante a infância e adolescência, sendo 10% destes renovados anualmente, independentemente da massa corporal do indivíduo.(Kumar, Abbas, Fausto, & Aster, 2010)

No ser humano estão presentes dois tipos de tecido adiposo: o tecido adiposo branco (TAB) e o tecido adiposo castanho (TAC), sendo que estes apresentam funções e constituições diferentes. O TAC, está presente principalmente nos fetos e recém-nascidos e tem função termogénica, atribuída pela grande quantidade de mitocôndrias que o constitui. O seu adipócito tem um diâmetro médio de 30 a 40 micrómetros, e possui várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de diferentes tamanhos, citoplasma relativamente abundante, núcleo esférico e excêntrico.(Fonseca-Alaniz, Takada, Alonso-Vale, & Lima, 2007)

O TAB embora tenha função termogénica, tem como principais funções o armazenamento/ fornecimento de energia ao organismo e a produção e secreção de hormonas. Este encontra-se em quase todo o organismo, associado a órgãos e vísceras ocas da cavidade abdominal apresentando função protectora destes órgãos, já que associado aos vários grupos musculares envolventes, consegue amenizar impactos.

Também é encontrado subcutaneamente com distribuição em quase todo o organismo. O seu adipócito tem um tamanho superior ao do TAC, com um diâmetro médio de 60 a 100 micrómetros, e sendo apenas constituído por uma grande gotícula lipídica que ocupa a maioria do espaço na célula. (Fonseca-Alaniz et al., 2007)

Nos últimos anos, vários estudos sugerem que a obesidade se encontra relacionada com um processo inflamatório subclínico, dado que o tecido adiposo branco do obeso produz maior quantidade de mediadores inflamatórios do que o do indivíduo não obeso. (Carrizo et al., 2013; Giordano et al., 2011; Hosick et al., 2013; Tam, Clément, Baur, & Tordjman, 2010)

O tecido adiposo branco é constituído por uma grande variedade de células, incluindo, adipócitos maduros, pré-adipócitos, fibroblastos, células endoteliais e macrófagos. São os adipócitos, pré-adipócitos e os macrófagos que atribuem ao TAB a sua capacidade de libertação de mediadores inflamatórios, com diferentes acções biológicas, entre as quais a interleucina 6 (IL-6), a leptina, a adiponectina, o factor inibidor do plasminogénio (PAI-1) e o factor de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ). Cada adipócito segrega uma pequena quantidade destas substâncias, mas devido à grande quantidade de tecido adiposo existente no organismo, esta secreção de citocinas provoca grande impacto, sendo os níveis de IL-6 e TNF $\alpha$  directamente relacionados com a quantidade de tecido adiposo existente. (Caruso, Balistreri, & Candore, 2010; Hosick et al., 2013; Martí, Marcos, & Martínez, 2001; Miraglia, 2012; Silva, 2012)

O TNF $\alpha$  é uma das principais citocinas mediadoras da inflamação, com acção autócrina, parácrina e endócrina, produzida nos adipócitos do tecido adiposo branco, por macrófagos que se infiltram nesse mesmo tecido. O seu valor absoluto aumenta com o aumento do peso do indivíduo, e este está relacionado com uma série de processos metabólicos e processos crónicos de inflamação. (Berg & Scherer, 2005; Kumar et al., 2010; Miraglia, 2012)

A infiltração de macrófagos no tecido adiposo branco, aumenta em proporção ao índice de massa corporal e à hipertrofia dos adipócitos. São vários os factores que podem estar relacionados com esta infiltração, tais como a secreção de leptina, a hipóxia do tecido adiposo devido à compressão de vasos sanguíneos, derivada da hipertrofia dos adipócitos, o stress das células endoteliais e a secreção de MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant*

*Protein 1*). Os monócitos transformam-se em macrófagos após a sua migração para o TAB e juntamente com as células endoteliais podem agravar o estado inflamatório local e sistémico, resultando num aumento da secreção de citocinas, como o TNF $\alpha$ . A produção de TNF $\alpha$  estimula os pré-adipócitos a produzir MCP-1 tendo como consequência o seu aumento na infiltração monocitária. Altera o balanço imunitário do tecido, contribuindo para o aumento do estado inflamatório do TAB e para a sua exacerbação, podendo levar a um aumento da presença de citocinas inflamatórias em circulação sistémica. (Cancello & Clément, 2006; Caruso et al., 2010; Leite, Rocha, & Neto, 2009; Wellen & Hotamisligil, 2003)

Sendo assim, o TNF $\alpha$ , citocina pró-inflamatória, pode ser o elo que faltava na relação entre o tecido adiposo e as complicações cardiovasculares, metabólicas e hepáticas da obesidade, já que este participa num variado conjunto de processos de resposta a lesões, infecções, angiogénese e/ou apoptose em conjunto com as restantes citocinas produzidas no TAB. (Carrizo et al., 2013; Fonseca-Alaniz et al., 2007; Leite et al., 2009)

Uma das suas principais ações consiste na intervenção no mecanismo de resistência à insulina, através da aceleração da lipólise nos adipócitos, com aumento dos ácidos gordos livres na circulação, redução da síntese e translocação do transportador de glicose GLUT-4 e redução da fosforilação do substrato 1 do receptor IRS-1. Este também se encontra envolvido na indução da aterogénese, participando na migração de monócitos e consequente conversão em macrófagos no endotélio vascular por activação do factor nuclear (NF $\kappa$ B), levando à acumulação de células inflamatórias na parede vascular. Tem também um efeito deletério sobre a homeostase vascular, diminuindo a vasodilatação, devido à regulação da produção de óxido nítrico (NO), reduzindo a sua biodisponibilidade, sendo em conjunto com a aceleração da lipólise e a indução da aterogénese, causas de hipertensão arterial associada à obesidade. Todas estas interacções que se associam ao TNF $\alpha$ , indicam-nos assim que este, está intimamente associado com a Síndrome Metabólica, caracterizada segundo a *International Diabetes Federation* (IDF), pela presença de obesidade em conjunto com pelo menos dois dos seguintes: níveis elevados de triglicéridos, níveis reduzidos de HDL, pressão arterial elevada e anomalias da glicémia em jejum. Como critérios de diagnóstico, o IDF defende que níveis aumentados de marcadores sistémicos de inflamação, podem ser usados para diagnosticar a síndrome metabólica, podendo ser assim a presença do TNF $\alpha$  a nível sistémico um

marcador de diagnóstico da mesma.(Berg & Scherer, 2005; Carrizo et al., 2013; Caruso et al., 2010; Fonseca-Alaniz et al., 2007; Leite et al., 2009).

Ao nível da cavidade oral, o TNF $\alpha$  encontra-se relacionado com varias patologias da cavidade oral, sendo as mais frequentes a gengivite e a periodontite, dado que tal como na obesidade, os macrófagos activados servem de fonte de mediadores inflamatórios.(Bastos, Falcão, Pereira, Pereira, & Alves, 2005; Noh et al., 2013)

A gengivite é uma patologia inflamatória da cavidade oral, caracterizada pela inflamação dos tecidos gengivais, podendo assim encontrar-se como sinais clínicos vermelhidão, edema e hemorragia à sondagem gengival, mas ao contrário da periodontite, não se encontra perda óssea alveolar.(Leishman, Seymour, & Ford, 2013; Lindhe, 2012)

A reacção inflamatória gengival, tem como objectivo a protecção dos tecidos contra ameaças microbianas locais, evitando a propagação tanto de microorganismos como dos seus produtos tóxicos. No entanto, os mecanismos que operam para proteger o organismo podem ser também danosos, visto que os processos inflamatórios podem danificar as células circundantes à zona afectada, promovendo por exemplo, no caso da patologia gengival, a destruição de tecido conectivo.(Lindhe, 2012)

A etiologia da gengivite é atribuída maioritariamente à presença de placa bacteriana que se acumula nas superfícies dentárias. Esta placa bacteriana é na sua essência, um biofilme, ou seja, “um conjunto de comunidades de microorganismos unidos entre si e a uma superfície, organizados numa estrutura dinâmica e tridimensional”. Devido às excelentes características que a cavidade oral apresenta para a colonização bacteriana (ambiente quente e húmido, sem superfícies descamativas), esta torna-se num local privilegiado para a proliferação microbiana. Actualmente preconiza-se que com o controlo de placa diário, se impede a formação de biofilmes maduros com capacidade de causar patologia, os sinais clínicos de inflamação gengival desaparecem. (Bastos et al., 2005; Leishman et al., 2013; Lindhe, 2012; Sala & García, 2013)

Esta placa bacteriana é constituída, na cavidade oral, por 15 a 20% de microorganismos de várias espécies, *Streptococcus* (*S. Sanguinis*, *S. Oralis*, *S. Mitis*, *S. Mutans*), *Actinomyces*, *Neisseria*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, entre outros, e 75 a 80% de matriz extracelular, com origem na dieta (através da ingestão alimentar), na saliva (através da deposição de elementos constituintes da saliva) e na actividade bacteriana. Entre os

microorganismos presentes na placa bacteriana a *Porphyromonas Gingivalis* é uma das principais associadas à patologia gengival, tendo sido encontrada em grande número em doentes com esta patologia. (Kinney et al., 2011; Lindhe, 2012; Noh et al., 2013; Sala & García, 2013)

Tal como referido anteriormente, o eficaz controlo de placa, impede a formação de um biofilme maduro. Se esse controlo não acontece, a acumulação de placa nas superfícies dentárias aumenta e a flora bacteriana vai mudando, porque em estágios iniciais as bactérias são geralmente aérobias tornando-se predominantemente anaeróbias com a acumulação de placa. Nesta fase de maior maturidade da placa, notam-se os maiores efeitos na gengiva do hospedeiro, visto que com a libertação de vários produtos biologicamente activos e solúveis o organismo responde através da sinalização do epitélio gengival, levando à produção de mediadores inflamatórios como o TNF $\alpha$ . Estes vão influenciar um conjunto vasto de processos biológicos, levando à reação inflamatória que conhecemos como gengivite e que pode, em alguns casos, evoluir para periodontite. (Lindhe, 2012; Scannapieco & Panagakos, 2004)

Clinicamente a gengivite apresenta-se através da alteração de cor da gengiva, que varia da cor rosada, associada a uma gengiva clinicamente saudável, para uma cor vermelha. Os doentes com gengivite apresentam a sua gengiva bastante edemaciada e sensível, sangrante ao menor contacto com os instrumentos de observação dentária. Na maioria dos casos de gengivite não existe algia, fazendo assim com que esta patologia permaneça por tratar por longos períodos de tempo, podendo desenvolver-se um agravamento na situação periodontal do doente. (Lindhe, 2012; Sala & García, 2013; Scannapieco & Panagakos, 2004)

Uma das maiores consequências do processo inflamatório gengival é a ulceração do epitélio sulcular, permitindo a passagem de bactérias do sulco gengival para a circulação sanguínea, originando bacteriémia, no caso de não ser controlado o processo inflamatório. Este estado vai influenciar a produção de mediadores inflamatórios no organismo, originando processos inflamatórios sistémicos. (Lindhe, 2012; Scannapieco & Panagakos, 2004)

Histopatologicamente o tecido gengival do doente com gengivite apresenta os sinais comuns de inflamação, alteração na rede vascular, com aumento do número de capilares,

aumento do exudado de fluído crevicular que leva ao edema tecidular. As células inflamatórias em circulação, na sua maioria macrófagos e linfócitos acumulam-se nos tecidos conectivos laterais ao epitélio juncional. (Lindhe, 2012; Scannapieco & Panagakos, 2004)

Assim e, como nos adipócitos, a infiltração de macrófagos nos tecidos, leva a um aumento na produção de mediadores inflamatórios, como o TNF $\alpha$ , mediadores inflamatórios estes que são transportados, pela corrente sanguínea, indo actuar a nível sistémico, ou então, como na gengivite, transportados para a saliva pelo fluído crevicular. (Lindhe, 2012; Noh et al., 2013)

A saliva é um fluído produzido maioritariamente pelos três pares de glândulas salivares *major* (parótidas, sublinguais e submandibulares), em quantidade variável, sendo no adulto saudável entre os 500 a 1500 ml por dia, composta por 98% de água e 2% de outros compostos, como electrólitos, muco, enzimas, detritos da alimentação e compostos derivados da circulação sanguínea, nomeadamente os mediadores inflamatórios, transferidos activa ou passivamente para a saliva. (Chiappin, Antonelli, Gatti, & De Palo, 2007; Pfaffe, Cooper-White, Beyerlein, Kostner, & Punyadeera, 2011; Rathnayake et al., 2013)

Possui diversas funções desde a solubilização dos alimentos, permitindo a criação do bolo alimentar e a sua deglutição, contribui para a digestão através de enzimas como a  $\alpha$ -amilase e facilita a percepção das papilas gustativas, a lubrificação dos tecidos moles da cavidade oral impedindo danos mecânicos à mucosa oral, a oralidade e o *wash out* das bactérias e dos resíduos alimentares da cavidade oral em conjunto com a língua. (Chiappin et al., 2007; Rathnayake et al., 2013)

Os componentes da saliva não têm apenas origem nas glândulas salivares, por isso estas não podem ser consideradas as únicas produtoras de saliva, dado que o fluído crevicular incorporado na saliva, é produzido no epitélio gengival, podendo ser considerado como um transudado do plasma sanguíneo. (Chiappin et al., 2007)

Vários tipos de marcadores inflamatórios têm sido associados à saliva, estando entre eles o TNF $\alpha$ . Assim, a saliva tem sido cada vez mais, vista como um potencial meio de diagnóstico tanto para patologias orais como sistémicas, mas devido à falta de compreensão sobre a bioquímica das moléculas que a compõem e da sua relevância na

patologia. Devido à falta de testes de detecção de alta sensibilidade, a hipótese de utilização da saliva como meio de diagnóstico é pouco frequente. (Pfaffe et al., 2011; Rathnayake et al., 2013)

As vantagens da utilização de saliva como meio de diagnóstico baseiam-se na recolha fácil e não invasiva deste fluído, permitindo assim efectuar diversas recolhas, o transporte e manuseio é simples e seguro relativamente a outros fluídos corporais. Além disso, é um fluído que nos mostra, em tempo real o estado do indivíduo, já que é produzida em glândulas exócrinas, produzindo assim um perfil proteico indicativo do estado de saúde do mesmo no momento da recolha. Assim a saliva pode ser usada como meio de diagnóstico em doentes de qualquer idade, cooperantes ou não. (Pfaffe et al., 2011; Rathnayake et al., 2013; Santos, Iglesias, Souza, Freitas, & Galvão, 2007; Sexton et al., 2011)

Este estudo tem como objectivo investigar a relação entre a obesidade / excesso de peso infantil e a gengivite, visto que em ambas as patologias, existem mecanismos que promovem o aumento dos valores dos mediadores inflamatórios, neste caso o TNF $\alpha$ . Pretende-se assim, compreender se o facto de um indivíduo apresentar uma das patologias, afecta o valor do mediador inflamatório TNF $\alpha$  e, se num indivíduo que apresente ambas as patologias, o valor deste mediador inflamatório está mais aumentado. Serão recolhidas amostras de saliva de uma população de 40 doentes da Clínica Universitária Egas Moniz, submetidas ao Teste ELISA para medição do mediador inflamatório TNF $\alpha$ .

## **2. Hipóteses**

As hipóteses de estudo são:

- Os indivíduos com Obesidade possuem alterações de TNF $\alpha$  na saliva.
- Os indivíduos com Gengivite possuem alterações de TNF $\alpha$  na saliva.
- Os indivíduos com Obesidade e Gengivite possuem alterações de TNF $\alpha$  na saliva, superior ao dos indivíduos que apresentam apenas uma das patologias.

## **II – Materiais e Métodos**

### **1. Considerações éticas**

Este estudo foi submetido à Comissão de Ética do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, tendo sido aprovado.

Este estudo é realizado em crianças (< 18 anos) pelo que os consentimentos informados foram assinados pelos pais, guardiões ou tutores, após serem esclarecidos acerca dos objectivos do mesmo. As amostras foram recolhidas e os dados recolhidos utilizados exclusivamente para análise estatística, mantendo-se a confidencialidade e anonimato, das crianças.

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

Estudo observacional, analítico e transversal com a finalidade de medir: a) concentração do mediador inflamatório TNF $\alpha$  que se encontra presente nas amostras de saliva humana; b) obesidade; c) gengivite.

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

As amostras foram recolhidas na Clínica Universitária Egas Moniz e analisadas no laboratório de bioquímica do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

### **4. Estudo clínico**

#### **4.1. Selecção 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 infantil
- Grupo B (N = 10) – Doentes com gengivite
- Grupo C (N = 10) – Doentes com obesidade infantil e gengivite
- Grupo D (N = 10) - Grupo controlo

Em todos os doentes, foi medido o IMC e quando este esteja acima do percentil 95, de acordo com as curvas de crescimento definidas pela OMS, o doente será considerado obeso, caso este se encontre acima do percentil 85 será considerado como um doente com excesso de peso. Como auxiliar desta classificação, também será medido o perímetro da cintura, visto que oferece múltiplas vantagens entre as quais ser uma medida mais correcta para avaliar a distribuição de gordura, tendo sido vista como melhor que o IMC para prever o risco de doença cardiovascular. Neste estudo todos os indivíduos que estiverem acima do percentil 75 serão considerados como indivíduos de risco (Daniels, Khoury, & Morrison, 2000; Direcção Geral de Saúde, 2006; George, 2013; National Health and Nutrition Examination Survey, 2011; Rito, Breda, & Carmo, 2010; Savva et al., 2000)

Tabela 1 – Classificação segundo a OMS do IMC em crianças

Classes de IMC	Percentil
Baixo Peso	Igual ou Inferior ao percentil 5
Peso Normal	Entre o percentil 5 e o percentil 85
Excesso de Peso	Igual ou superior ao percentil 85
Pré-Obesidade	Igual ou superior ao percentil 85 e inferior ao percentil 95
Obesidade	Igual ou superior ao percentil 95

Tabela 2 – Classificação do perímetro da cintura adaptada do Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil

Idade	Percentis para rapazes					Percentis para raparigas				
	P10	P25	P50	P75	P90	P10	P25	P50	P75	P90
9	55.5	59.9	61.7	67.0	74.3	54.3	56.9	60.7	65.7	72.6
10	57.3	61.8	63.7	69.6	77.7	55.9	58.6	62.7	68.0	75.5
11	59.1	63.6	65.8	72.2	81.1	57.5	60.2	64.4	70.3	78.3
12	60.9	65.5	67.9	74.9	84.5	59.1	61.9	66.3	72.6	81.2

Para auferir a condição gengival, foi medido o Índice de Placa de Sillness e Løe (IP), tendo sido considerados doentes com gengivite aqueles que apresentavam um valor de Índice de Placa superior a 1. Para facilitar as medições, foram utilizadas medições nos dentes índices de Ramfjord (16,11,26,36,31,46). (Løe, 1967; Moslehazadeh, 2014; Sala & García, 2013)

Tabela 3 – Classificação dos valores de Placa, segundo Silness e Løe (Løe, 1967)

Classificação	Observação
0	Sem placa
1	Um filme de placa aderida a gengiva marginal livre e área adjacente do dente, sendo essa placa apenas vista com uso de solução reveladora ou com passagem da sonda pela superfície do dente
2	Acumulação moderada de placa dentro da bolsa gengival, no dente ou margem gengival, que pode ser vista a olho nu
3	Abundancia de matéria mole dentro da bolsa gengival e/ou no dente e margem gengival

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 / Masculino;
- c) Doentes que sejam acompanhados por responsável que aprove e assine o consentimento informado;
- d) Doentes com idades entre 9 e 12 anos;

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

- Grupo A (N = 10) – Doentes com obesidade infantil
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC \geq 30$
  - Doentes que obtiveram simultaneamente um Índice de Placa (IP) de 0 ou 1
- Grupo B (N = 10) – Doentes com gengivite
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC < 30$

- Todos os indivíduos que tinham um Índice de Placa (IP) 2 ou 3
- Grupo C (N = 10) – Doentes com obesidade infantil e gengivite
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC \geq 30$
  - Doentes que obtiveram simultaneamente um Índice de Placa (IP) de 2 ou 3
- Grupo D (N = 10) - Grupo controlo
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC < 30$
  - Doentes que obtiveram simultaneamente um Índice de Placa (IP) de 0 ou 1

#### **4.3. Critérios de Exclusão:**

- Grupo A (N = 10) – Doentes com obesidade infantil
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC < 30$
  - Doentes que obtiveram um Índice de Placa (IP) de 2 ou 3
  - Doença Sistémica de base inflamatória crónica ou aguda (Balas-nakash et al., 2013; Schipper et al., 2012)
  - Terapêutica Antibiótica por razões Médicas ou Dentárias nos últimos 3 meses (Balas-nakash et al., 2013; Giordano et al., 2011; Leishman et al., 2013)
  - Doença Oncológica (Sexton et al., 2011)
- Grupo B (N = 10) – Doentes com gengivite
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC \geq 30$
  - Doentes que obtiveram simultaneamente um Índice de Placa (IP) de 0 ou 1

- Doença Sistémica de base inflamatória crónica ou aguda (Balas-nakash et al., 2013; Schipper et al., 2012)
- Terapêutica Antibiótica por razões Médicas ou Dentárias nos últimos 3 meses (Balas-nakash et al., 2013; Giordano et al., 2011; Leishman et al., 2013)
- Doença Oncológica (Sexton et al., 2011)
- Grupo C (N = 10) – Doentes com obesidade infantil e gengivite
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC < 30$
  - Doentes que obtiveram simultaneamente um Índice de Placa (IP) de 0 ou 1
  - Doença Sistémica de base inflamatória crónica ou aguda (Balas-nakash et al., 2013; Schipper et al., 2012)
  - Terapêutica Antibiótica por razões Médicas ou Dentárias nos últimos 3 meses (Balas-nakash et al., 2013; Giordano et al., 2011; Leishman et al., 2013)
  - Doença Oncológica (Sexton et al., 2011)
- Grupo D (N = 10) - Grupo controlo
  - Todos os indivíduos que tinham  $IMC \geq 30$
  - Doentes que obtiveram simultaneamente um Índice de Placa (IP) de 2 ou 3
  - Doença Sistémica de base inflamatória crónica ou aguda (Balas-nakash et al., 2013; Schipper et al., 2012)
  - Terapêutica Antibiótica por razões Médicas ou Dentárias nos últimos 3 meses (Balas-nakash et al., 2013; Giordano et al., 2011; Leishman et al., 2013)

- Doença Oncológica (Sexton et al., 2011)

#### **4.4. Estudo das Variáveis (em todos os grupos)**

Serão estudadas as seguintes variáveis: idade, género, índice de placa (IP), nível de TNF $\alpha$  na saliva, índice de massa corporal e perímetro da cintura.

#### **4.5. Observação Clínica**

A nível clínico foram examinados os seguintes parâmetros: IMC, perímetro da cintura e índice de placa.

##### **4.5.1. Índice de Massa Corporal**

Para realizar o procedimento de cálculo do IMC em todos os doentes, foi necessário recolher dos mesmos duas medidas antropométricas, mais precisamente o peso e a altura, em todos os grupos do estudo. As medições foram realizadas segundo as normas definidas pelo Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil, elaborado pelo Instituto Nacional de Saúde em colaboração com a DGS. (Rito et al., 2010)

O peso foi medido com uma balança electrónica, colocada numa superfície plana e firme, com o doente descalço, com roupa leve e sem qualquer acessório.

- a) A criança foi colocada no meio da balança, com os pés ligeiramente afastados permanecendo imóvel, até o valor do peso aparecer no mostrador, sendo que o seu peso deveria estar uniformemente distribuído por ambos os pés.
- b) A criança manteve-se em posição vertical, com a cabeça erecta, olhar fixo em frente e braços estendidos ao longo do corpo, com as palmas das mãos voltadas para dentro.
- c) Foram realizadas duas medições sequencialmente.
- d) A cada valor de medição foi retirado 0,5 kg, para correcção do peso relativo ao uso de vestuário leve.
- e) Foi realizada a média aritmética de ambos os valores.

A altura foi medida com o uso de um estadiómetro montado de forma correcta, assente numa superfície plana, com o doente descalço e sem quaisquer outros acessórios que pudessem influenciar a avaliação.

- a) A criança foi ajudada a posicionar-se com os pés bem assentes no chão, ligeiramente afastados, fazendo um ângulo de 60° com os calcanhares, bem encostados à superfície vertical, certificando-nos sempre que os ombros estavam nivelados e os braços colocados ao longo do corpo. A parte de trás da cabeça, as omoplatas, as nádegas e os calcanhares foram colocados a tocar a superfície verticalmente, estando sempre as pernas direitas.
- b) A cabeça foi posicionada de forma que o olhar se mantivesse na horizontal (plano de Frankfurt), segurando o queixo da criança com o dedo indicador e o polegar de forma a manter a cabeça posicionada correctamente.
- c) Mantendo a posição da cabeça, utilizou-se a outra mão para movimentar o cursor, mantendo-o posicionado no topo da cabeça, comprimindo o cabelo.
- d) Solicitou-se que a criança inspirasse durante a leitura.
- e) Realizaram-se sequencialmente duas medições, que foram registadas em centímetros até ao último milímetro, calculando-se de seguida a média aritmética.

#### **4.5.2. Perímetro da Cintura**

Em todos os grupos o perímetro da cintura foi medido com uma fita métrica não extensível, utilizando o método de Cameron, descrito no Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil, verificando sempre que o doente não tivesse qualquer roupa na zona a analisar e não havendo nenhum tipo de força sobre a mesma (por exemplo força provocada pelo uso de cinto). (Rito et al., 2010)

- a) Foi pedido ao doente que se colocasse de pé, com os pés juntos e bem assentes no chão e os braços relaxados, pendendo naturalmente.
- b) Colocou-se a fita métrica em plano perpendicular ao eixo vertical do corpo e paralelo ao chão, em redor do abdómen, ao nível do bordo superior da crista ilíaca.

- c) Realizaram-se duas medições sequenciais, no final de uma expiração normal, até ao milímetro mais próximo, sendo realizada posteriormente a média aritmética de ambas as medições.

#### **4.5.3. Índice de placa de Sillness e Løe**

O índice de placa foi medido, em todos os grupos usando uma sonda periodontal de modo a impedir o sangramento dos tecidos, utilizando o método descrito pelo artigo de Løe.(Løe, 1967)

- a) Foi pedido ao doente que se sentasse na cadeira, da forma mais confortável possível e que abrisse ligeiramente a boca de forma a se proceder à avaliação.
- b) Em cada um dos dentes índice, foram avaliadas primeiro as superfícies distais, seguidas das vestibulares, mesiais e por último palatinas, tendo sido o valor obtido em cada uma das localizações registado.
- c) A verificação dos níveis de placa, foi realizada com sonda periodontal, que era passada pela superfície dentária, o mais próximo da gengiva possível, de modo a verificar se haveria presença de placa justa ou supra gengival.
- d) Após análise de todos os dentes índice, foi calculado o valor do índice de placa, fazendo a soma dos valores de cada localização e a sua divisão pelo número de faces analisadas (4). Tendo o resultado de cada um dos dentes índice, esses valores foram somados e divididos pelo número de dentes analisados (6), originando o valor do índice de placa.

#### **4.5.4. Recolha de Saliva**

A recolha de saliva foi efectuada em todos os grupos, usando uma técnica de recolha de saliva não estimulada, visto que este método facilita a análise quantitativa dos constituintes salivares e evita alterações que possam ser provocadas por estimulação salivar activa.(Nunes, Mussavira, & Bindhu, 2015)

- a) Foi pedido ao doente que se sentasse numa cadeira, o mais relaxado possível, com as costas direitas, e encostadas no apoio da cadeira;
- b) Foi entregue ao doente um tubo *Falcon* de 50 ml, onde foi recolhida a saliva;

- c) Pediu-se ao doente para, o mais direito possível na cadeira, baixar a cabeça e manter a boca aberta, sem fazer quaisquer movimentos mastigatórios ou semelhantes, de modo a poder ser recolhido o volume de saliva necessário, sendo instruído para não falar durante a recolha de saliva;
- d) A recolha foi realizada durante 5 minutos para todos os doentes, excepto aqueles para a qual não se conseguiu recolher o volume necessário para a análise laboratorial. Nesse caso, a recolha continuou durante o tempo necessário para a recolha desse volume mínimo necessário.

### **5. Conservação das Amostras de Saliva Recolhidas**

Após a recolha da amostra de saliva estimulada em tubos graduados, a mesma foi congelada até ser realizada a respetiva análise imunológica, tendo sido identificadas no momento da colheita, rotuladas e tratadas para que seja respeitado 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 irá gerar um código com o número de identificação, o que garantiu a rastreabilidade da amostra e separação de dados pessoais e clínicos.

### **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)
  - Os tubos foram identificados como A1, A2, A3 ... até A10
- De 11 até 20: Grupo B (Gengivite)
  - Os tubos foram identificados como B11, B12, B13 ... até B20
- De 21 até 30: Grupo C (Obesidade + Gengivite)
  - 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 $\alpha$ , nas amostras recolhidas de saliva**

Previamente à medição imunológica, as amostras foram descongeladas, centrifugadas e pipetadas para serem analisadas pelo equipamento IMMULITE da Siemens, que permite a realização, através de quimioluminiscência, de imunoensaios automatizados. Através do uso de um kit específico, foi quantificado o valor de TNF $\alpha$  em cada amostra. Este instrumento realiza ensaios específicos através de perolas de poliestireno recobertas por um reagente marcado com fosfatase alcalina, um substrato quimioluminescente e um antígeno ou anticorpo que corresponde a uma fase sólida e que se encontra alojado num dispositivo plástico, com o nome de unidade de teste. Este sistema, automatiza o ensaio, sendo apenas o operador participante numa fase inicial, em que se realiza a transferência das amostras para as unidades de teste e a sua colocação na plataforma de carga.

Protocolo laboratorial:

1. Pipetou-se cada amostra para 2 tubos codificados por códigos de barras, designados por unidades de teste.
2. Cada unidade de teste foi transferida para os dispositivos de incubação principal.
3. Adicionou-se o reagente correspondente ao kit e fosfatase alcalina ao sistema.
4. O primeiro tubo apresentava o substrato, tendo sido considerado o controlo que iria calibrar o ensaio para medição dos valores de TNF $\alpha$ .
5. Efectuou-se a leitura dos códigos de barras das unidades de teste.
6. Realizou-se a incubação das amostras durante 30 a 60 minutos a 37°C.
7. Centrifugação e lavagem das unidades de teste.
8. Incubação durante 10 minutos a 37°C.

9. Os valores de TNF $\alpha$  de cada amostra eram expressos em pg/ml, e foram registados numa folha de laboratório, tendo sido posteriormente introduzidos no *software* Microsoft Excel para posterior análise estatística.

## 8. Base de Dados para o registo

Os dados clínicos e laboratoriais obtidos, foram introduzidos e codificados no *software* Microsoft Excel, para facilitar a análise estatística no *software* de análise estatística SPSS Statistics 21®.

## 9. Análise Estatística

Após a junção de todos os dados recolhidos numa única base de dados, procedeu-se à análise estatística, utilizando medidas de estatística descritiva e estatística inferencial. Nesta utilizou-se um nível de significância ( $\alpha$ )  $\leq 0,05$  como referência para se aceitar ou rejeitar a hipótese nula, mas se forem encontradas diferenças significativas para ( $\alpha$ )  $\leq 0,10$ , estas serão comentadas.

Como as variáveis quantitativas não tinham distribuição normal, utilizaram-se os coeficientes de correlação de Spearman. Nos testes em que comparámos mais de dois grupos, utilizámos o teste *Anova One-Way*, porque a análise foi realizada sobre variáveis quantitativas.

O pressuposto de normalidade de distribuição e de homogeneidade de variâncias foram analisados com os testes de *Shapiro-Wilk* e de *Levene*, de modo a assegurar a existência destes mesmos pressupostos. A análise estatística foi efectuada com o SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 21 para *Windows* e *MAC OSX*.



### III - Resultados

#### 1 – Caracterização da amostra

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

Todos os indivíduos foram divididos em quatro grupos: Doentes com obesidade, doentes com gengivite, doentes com obesidade e gengivite e indivíduos controlo (saudáveis). A distribuição por estes grupos foi homogénea (25,0%, n=10).

Tabela 4 – Tabela de Frequências relativas e absolutas 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
Indivíduos controlo (saudáveis)	10	25,0
Total	40	100,0

##### 1.2. – Género

Foram avaliados nesta investigação 40 indivíduos, sendo a maioria do sexo masculino (52,5%, n=21) correspondendo os restantes 47,5% aos indivíduos do sexo feminino (n=19).

Tabela 5 – Género dos indivíduos que participaram no estudo clínico

Género	Frequência	Percentagem	Percentagem Cumulativa
Masculino	21	52,5	52,5
Feminino	19	47,5	100,0
Total	40	100,0	

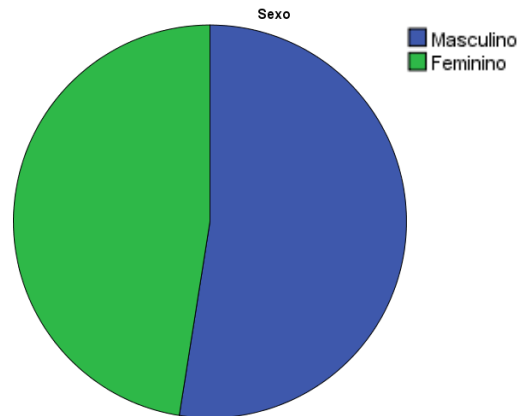


Figura 1 – Gráfico de frequências relativas do género

### 1.3. – Caracterização Demográfica

Os quarenta doentes presentes nesta investigação, eram na maioria provenientes do Distrito de Setúbal (85,0%, n=34), sendo os restantes provenientes do distrito de Lisboa.

Tabela 6 – Distritos de residência dos participantes no estudo clínico

Distrito	Frequência	Percentagem
Lisboa	6	15,0
Setúbal	34	85,0
Total	40	100,0

### 1.4. – Idade

A média de idades dos doentes foi de 10,67 anos (dp =1,14), sendo a idade mínima de 9 anos e a máxima de 12 anos

Tabela 7 – Idade dos indivíduos participantes no estudo

Idade	Frequência	Percentagem	Percentagem cumulativa	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
9	10	25,0	25,0	10,67	1,14	9	12
10	4	10,0	35,0				
11	15	37,5	72,5				
12	11	27,5	100,0				
Total	40	100,0					

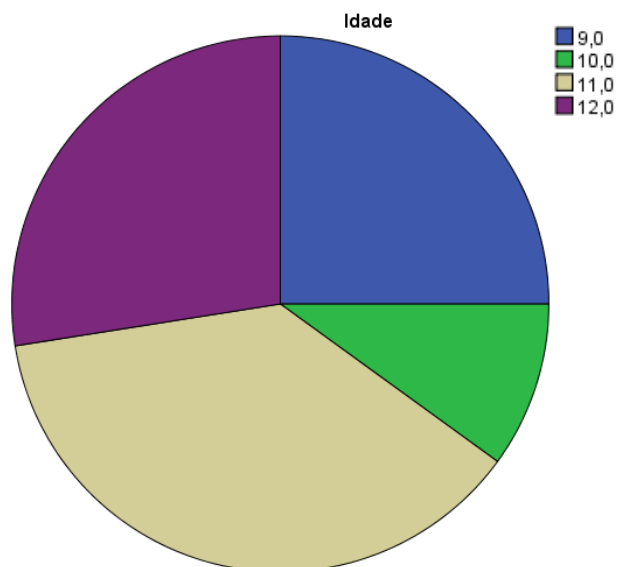


Figura 2 – Gráfico de frequências relativas à idade dos participantes

### 1.5. – Caracterização de dados de higiene oral

Todos os doentes foram questionados sobre os seus hábitos de higiene oral, frequência, escovagem de forma voluntária ou involuntária, com ou sem supervisão utilização de equipamento para limpeza de espaços interdentários (fio dentário ou semelhante).

Na tabela 8 apresentam-se os dados sobre a frequência de escovagem dos inquiridos, em que 80,0% (n = 32), indicam que efectuam a escovagem dos dentes 2 vezes por dia.

Tabela 8 – Frequência de escovagem dos participantes

Nº de Escovagens/dia	Frequência	Percentagem
1	8	20,0
2	32	80,0
Total	40	100,0

Relativamente ao uso de fio dentário previamente à escovagem, de modo a promover a limpeza dos espaços interdentários, apenas 12,5% (n=5) dos inquiridos, dizem usar fio dentário ou semelhante para a limpeza dos espaços interdentários, como se demonstra na tabela 9.

Tabela 9 – Frequência de uso de fio dentário (ou semelhante) dos participantes

Uso de Fio Dentário	Frequência	Porcentagem
Sim	5	12,5
Não	35	87,5
Total	40	100,0

Por último os doentes foram questionados sobre se o procedimento de escovagem era voluntário ou involuntário e se este, era supervisionado ou não, encontrando-se as respostas descritas na tabela 10. Dos 40 inquiridos, 32,5% (n=13) referem que realizam a sua escovagem de forma voluntária e não supervisionada, enquanto 12,5% (n=5) efectuam a sua escovagem de forma involuntária e não supervisionada.

Tabela 10 – Tipos de escovagem associados aos participantes

	Frequência	Porcentagem
Escovagem Voluntária Supervisionada	9	22,5
Escovagem Voluntária Não Supervisionada	13	32,5
Escovagem Involuntária Supervisionada	13	32,5
Escovagem Involuntária Não Supervisionada	5	12,5
Total	40	100,0

### 1.6. – Caracterização de dados de actividade / ingestão alimentar

Todos os doentes foram questionados sobre os seus hábitos alimentares e sobre a sua actividade física. No capítulo de actividade física, por todos estarem em idade escolar, todos realizavam exercício físico na escola, sendo que 70% (n=28), praticam entre 2 e 3 horas de exercício físico na escola. Já em actividades físicas extra curriculares 42,5% (n=17) dos indivíduos não praticava nenhuma actividade, e 32,5% (n=13) praticava uma actividade que implicava até 1 hora de exercício semanal. Todos os dados estão ilustrados nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11 – Tabela de actividade física a nível escolar dos participantes

Exercício Escolar	Frequência	Percentagem
Até 1 hora	1	2,5
Entre 1 e 2 horas	10	25,0
Entre 2 e 3 horas	28	70,0
Mais de 3 horas	1	2,5
Total	40	100

Tabela 12 – Tabela de actividade física extra-escolar dos participantes

Exercício Extra-escolar	Frequência	Percentagem
Nenhum	17	42,5
Até 1 hora	13	32,5
Entre 1 e 2 horas	6	15,0
Entre 2 e 3 horas	1	2,5
Mais de 3 horas	3	7,5
Total	40	100,0

Sobre a ingestão alimentar dos inquiridos, foi-lhes perguntado qual o seu consumo de alimentos (rebuçados, gomas, gelados, entre outros) e bebidas (sumos com e sem gás, entre outros) açucaradas durante o período de uma semana. Verificou-se que a maioria dos inquiridos, tanto para as bebidas (40%, n=16) como para os alimentos (50%, n=20) açucarados fazia um consumo maioritariamente aos fins-de-semana, em duas refeições diárias, verificando-se uma ingestão destes alimentos duas a quatro vezes por semana. Os dados estão indicados nas tabelas 13 e 14.

Tabela 13 – Consumo de bebidas açucaradas pelos participantes

Bebidas Açucaradas	Frequência	Percentagem
1 Ingestão Semanal ou Menos	7	17,5
2 a 4 Ingestões Semanais	16	40,0
5 a 7 ingestões Semanais	9	22,5
Mais de 7 ingestões Semanais	8	20,0
Total	40	100,0

Tabela 14 – Consumo de alimentos açucarados pelos participantes

Alimentos Açucaradas	Frequência	Porcentagem
1 Ingestão Semanal ou Menos	14	35,0
2 a 4 Ingestões Semanais	20	50,0
5 a 7 ingestões Semanais	6	15,0
Mais de 7 ingestões Semanais	0	0
Total	40	100,0

### 1.7. – Índice de Placa

Os doentes foram agrupados em três grupos quanto à presença de placa: doentes sem placa (valor de IP =0), doentes com placa mas sem alterações gengivais (valor de  $IP \leq 1$ ), e doentes com placa e alteração gengival (gengivite) ( $1 < IP \leq 3$ ).

Tabela 15 – Frequências dos valores de placa dos participantes

Grupo	Frequência	Porcentagem
Doentes sem placa	2	5,0
Doentes com placa mas sem alterações gengivais	18	45,0
Doentes com placa e alteração gengival	20	50,0
Total	40	100,0

### 1.8. – Altura, peso, IMC, Perímetro da Cintura, TNF $\alpha$

Tabela 16 – Estatística descritiva da altura, peso, IMC, perímetro da cintura e TNF $\alpha$  da amostra

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Altura	40	1,24	1,73	1,50	0,10
Peso	40	26,60	87,80	45,96	13,42
IMC	40	13,45	33,05	20,08	4,43
Perímetro da Cintura	40	52,0	96,0	67,75	9,63
TNF $\alpha$	40	10,90	129,50	35,80	28,73

Na figura seguinte podemos apreciar os valores de TNF $\alpha$  em cada grupo. Nos grupos A, B e C, identificamos 4 observações que podem ser consideradas *outliers* no que respeita aos níveis de TNF $\alpha$

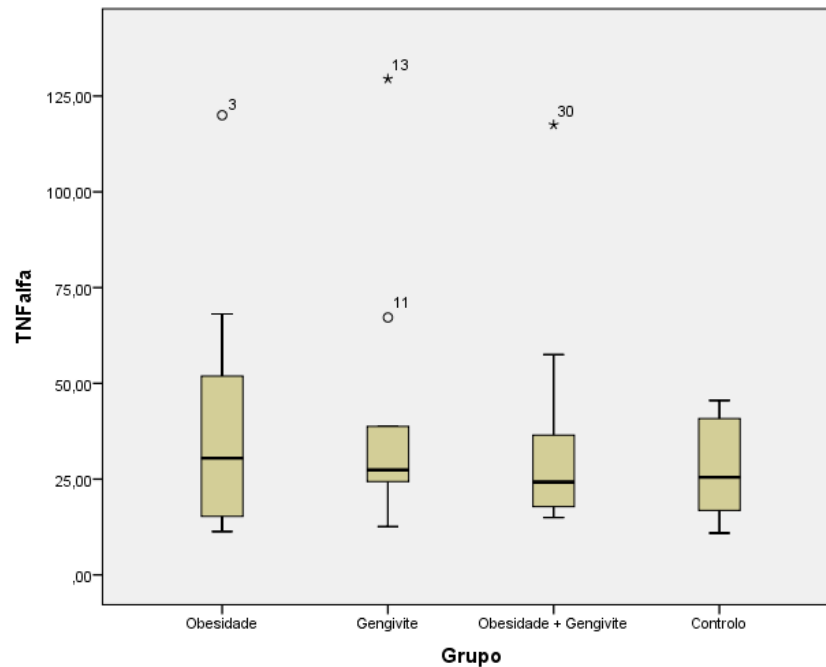


Figura 3 – Diagrama de extremos e quartis relativo aos níveis de TNF $\alpha$

## 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, após a remoção de *outliers* em 3 dos 4 grupos, sendo que através do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* (indicado para amostras superiores a 20 indivíduos) conclui-se haver relação entre os 4 grupos havendo homogeneidade de variâncias.

Realizou-se também o teste *Anova*, concluindo-se que, devido à amostra reduzida, não existe significância estatística, nas diferenças entre as médias dos valores de TNF $\alpha$  de cada grupo.

Tabela 17 – Associação dos níveis de TNF $\alpha$  nos 4 grupos da amostra

Obesidade (n=9)		Gengivite (n=8)		Obesidade + Gengivite (n=9)		Controlo (n=10)		Sig
M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	
31,68	19,12	25,76	7,87	22,86	7,59	26,62	11,95	,553

Os valores de TNF $\alpha$  foram mais baixos no grupo controlo do que no grupo da obesidade (26,62 vs 31,68), embora a diferença não seja significativamente estatística (p=0,553).

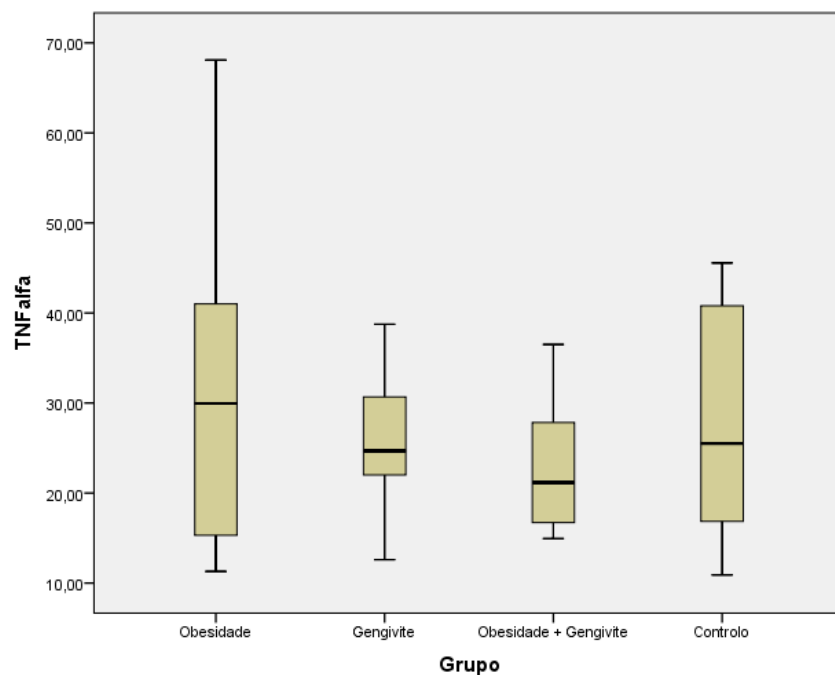


Figura 4 – Gráfico Representativo dos níveis de TNF $\alpha$  nos 4 grupos da amostra

### 3 – Correlação das variáveis TNF $\alpha$ , Índice de placa, IMC, perímetro da cintura e idade em cada um dos grupos

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

### 3.1. – Obesidade – Grupo A

Tabela 18 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo A

Rô de <i>Spearman</i>	TNF $\alpha$	Índice Placa	IMC	Perímetro Cintura	Idade
TNF $\alpha$					
Índice de Placa	0,74				
IMC	,285	,759*			
Perímetro Cintura	,024	,709*	,881**		
Idade	,083	-,007	,263	,470	

\*p = 0,05    \*\*p = 0,01

O coeficiente de correlação entre o IMC e o Índice de placa foi estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,759$ ). Conclui-se que os níveis do índice de placa tendem a subir quando o IMC aumenta em indivíduos com obesidade.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o índice de placa foi estatisticamente significativo, positivo e forte ( $r=,709$ ). Assim, quanto maior foi o perímetro de cintura do doente, maior será o índice de placa.

O coeficiente de correlação entre o perímetro da cintura e o IMC foi estatisticamente significativo, positivo e muito forte ( $r=,881$ ). Logo quanto maior for o valor de IMC em doentes com obesidade maior será o seu perímetro de cintura.

Os coeficientes de correlação entre os níveis de TNF $\alpha$  e as variáveis índice de placa, IMC, perímetro da cintura e idade, foram positivos e fracos. Assim, neste grupo, com o aumento dos valores de TNF $\alpha$ , os valores de índice de placa, IMC, perímetro da cintura e idade também tiveram tendência a aumentar.

Os coeficientes de correlação entre a idade e as variáveis IMC e perímetro da cintura, foram fracos e positivos. Logo, neste grupo, com o aumento da idade, os valores de IMC e perímetro da cintura foram também aumentando. Em sentido inverso, a variável índice de placa, obteve uma correlação negativa e muito fraca com a idade. Assim, no grupo dos doentes com obesidade, com o aumento da idade, o índice de placa tende a diminuir.

### 3.2. – Gengivite – Grupo B

Tabela 19 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo B

Rô de Spearman	TNF $\alpha$	Índice Placa	IMC	Perímetro Cintura	Idade
TNF $\alpha$					
Índice de Placa	,299				
IMC	-,515	-,150			
Perímetro Cintura	-,134	,066	,675*		
Idade	,078	-,251	,176	,212	

\*p = 0,05    \*\*p = 0,01

O coeficiente de correlação entre o perímetro de cintura e o IMC, no grupo dos pacientes com gengivite, é estatisticamente significativo, forte e positivo ( $r=,675$ ). Isto significa que, neste grupo, com o aumento do perímetro de cintura, verifica-se o aumento do seu IMC.

Os coeficientes de correlação entre o valor de TNF $\alpha$  e as variáveis índice de placa, e idade, são positivos e fracos. Assim, neste grupo de doentes, com o aumento do valor de TNF $\alpha$ , existe aumento do valor de índice de placa e da idade do doente. Em sentido oposto, verificou-se uma correlação fraca e negativa entre o valor do TNF $\alpha$  e as variáveis IMC e perímetro da cintura. Logo, neste caso, com o aumento do valor de TNF $\alpha$ , ocorre a diminuição do valor do IMC e do perímetro da cintura.

O coeficiente de correlação entre o índice de placa e a variável perímetro da cintura foram positivos e muito fracos, concluindo-se que neste grupo, com o aumento do índice de placa, existe um aumento do perímetro de cintura. No entanto, na correlação entre o índice de placa e as variáveis IMC e idade, a correlação é fraca e negativa, o que significa que, no grupo dos doentes com gengivite, com o maior o valor do índice de placa, menor o valor do IMC e da idade do doente.

O coeficiente de correlação entre a idade e as variáveis IMC e perímetro da cintura é positivo, mas fraco. Assim o aumento da idade corresponde a um aumento do IMC e do perímetro da cintura.

### 3.3. - Obesidade + Gengivite - Grupo C

Tabela 20 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo C

Rô de <i>Spearman</i>	TNF $\alpha$	Índice Placa	IMC	Perímetro Cintura	Idade
TNF $\alpha$					
Índice de Placa	,801**				
IMC	,248	,055			
Perímetro Cintura	,152	,012	,818**		
Idade	,038	,391	,175	,088	

\*p = 0,05    \*\*p = 0,01

O coeficiente de correlação entre o valor de TNF $\alpha$  e o índice de placa, no grupo dos doentes com obesidade e gengivite, foi estatisticamente significativo, positivo e muito forte, concluindo-se que o aumento do valor do índice de placa, implica o aumento do valor de TNF $\alpha$ .

O coeficiente de correlação entre o valor do IMC e o perímetro de cintura foi, neste grupo, estatisticamente significativo, positivo e muito forte, o que nos indica que, neste grupo, com o aumento do IMC, ocorre também o aumento do valor do perímetro de cintura do doente.

Os coeficientes de correlação entre o valor de TNF $\alpha$  e as variáveis IMC e perímetro da cintura, foram positivas mas fracas, o que leva a crer que, neste grupo, com o aumento do valor de TNF $\alpha$ , ocorre um aumento do valor do IMC e do perímetro da cintura dos doentes, no grupo dos doentes com obesidade e gengivite.

Os coeficientes de correlação entre o valor do índice de placa e o IMC e o perímetro de cintura, foram positivos mas muito fracos, o que indica que neste grupo de doentes, com o aumento do valor do índice de placa, há aumento do valor do IMC e do perímetro da cintura.

Os coeficientes de correlação entre a idade e os valores das variáveis TNF $\alpha$ , índice de placa, IMC e perímetro da cintura, foram positivos, mas fracos. Podemos considerar que com o aumento da idade dos doentes, houve tendência para o aumento dos valores de TNF $\alpha$ , índice de placa, IMC e perímetro da cintura.

### 3.4. – Controlo - Grupo D

Tabela 21 - Correlações entre as variáveis TNF $\alpha$ , IL-6, IPC, PIP, IMC, perímetro da cintura e idade no grupo D

Rô de <i>Spearman</i>	TNF $\alpha$	Índice Placa	IMC	Perímetro Cintura	Idade
TNF $\alpha$					
Índice de Placa	,506				
IMC	-,212	-,116			
Perímetro Cintura	,104	,071	,411		
Idade	,159	,185	,153	,302	

p = 0,05    \*\*p = 0,01

No grupo de controlo apenas foram encontrados coeficientes de correlação não significativos.

O coeficiente de correlação entre o índice de placa e o TNF $\alpha$  foi positivo e moderado, indicando que com o aumento do índice de placa, ocorre o aumento do valor de TNF $\alpha$ .

Os coeficientes de correlação entre o IMC e os valores de TNF $\alpha$  e índice de placa, foram negativos e fracos, levando assim a crer que, com o aumento do valor do IMC, ocorre diminuição do valor de TNF $\alpha$  e do índice de placa.

Os coeficientes de correlação entre o perímetro de cintura e o TNF $\alpha$  e o índice de placa são positivos e fracos, concluindo-se que com o aumento do valor do perímetro de cintura, há tendência para o aumento do valor do índice de placa e o valor de TNF $\alpha$ . No mesmo sentido, a correlação entre o perímetro de cintura e o IMC é positiva e moderada verificando-se que com o aumento do perímetro de cintura, ocorre aumento do IMC.

Os coeficientes de correlação entre a idade e as variáveis TNF $\alpha$ , índice de placa, IMC e perímetro da cintura, são positivas, mas fracas, existindo assim uma relação entre o aumento da idade, e o aumento do valor de TNF $\alpha$ , do índice de placa, do IMC e do perímetro de cintura.

#### IV - Discussão

A saliva é cada vez mais o método preferido para o diagnóstico de patologias, tanto da cavidade oral como sistêmicas já que, pode ser obtida com relativa facilidade e sem necessidade de um operador com grande experiência. Desde o fim do século XX que os especialistas nesta área, têm vindo a utilizar e a melhorar as suas técnicas para tornar este fluído corporal, um dos mais utilizados tanto para diagnóstico como para prevenção de patologias variadas. (Pezelj-Ribaric et al., 2004).

Muitos dos estudos realizados na saliva, têm como objectivo a pesquisa de marcadores inflamatórios neste mesmo fluído, e a sua relação com patologias, tanto sistêmicas (obesidade), como locais (patologia gengival). (Goodson et al., 2014; Kose et al., 2015; Pezelj-Ribaric et al., 2004; Zimmermann, Bastos, Dias Gonçalves, Chambrone, & Duarte, 2012)

Tanto a obesidade como a patologia gengival, seja ela mais grave, como em casos de periodontite, ou mais ligeira, como na gengivite, tem vindo cada vez mais a ser associada a uma grande variedade destes marcadores inflamatórios, entre os quais o TNF $\alpha$ , sempre com resultados variados que tanto confirmam como desmentem esta ligação. Em crianças, a variedade de resultados, apesar de existir, é diminuta, face à não existência de muitos estudos neste tipo de indivíduos. (D'Aiuto et al., 2004; Kose et al., 2015; Lumeng & Saltiel, 2011; Ulker, Tulunoglu, Ozmeric, Can, & Demirtas, 2008)

Os valores obtidos nos 4 grupos da amostra, foram avaliados estatisticamente, resultando numa relação entre os 4 grupos com homogeneidade de variâncias. Devido à reduzida amostra, que ainda ficou mais debilitada devido à remoção de *outliers*, não houve significância de valores dentro de cada grupo. Os valores de TNF $\alpha$  foram maiores no grupo dos doentes com obesidade do que no grupo controlo (31,68 vs 26,62), mas sem apresentar significância estatística ( $p = 0,553$ ). Os valores do grupo B (Gengivite) e C (Obesidade + Gengivite) foram diminuídos em relação aos do grupo controlo, não podendo assim concluir-se que esta citocina, é um marcador específico destas doenças.

Estes dados vão de encontro aos referidos no estudo de Giordano *et al* (2011), realizado, num grupo de crianças e adolescentes italianos, onde foram encontrados níveis de TNF $\alpha$  mais elevados em circulação nos indivíduos obesos do que nos doentes de controlo, demonstrando assim que pode haver uma relação entre o valor de TNF $\alpha$  e a obesidade.

Também Carrizo *et al*, num grupo de crianças argentinas de idades compreendidas entre os 8 e 13 anos, verificaram que no grupo dos doentes obesos, o valor do TNF $\alpha$  em circulação no sangue era maior do que nos indivíduos controlo. (Carrizo et al., 2013; Giordano et al., 2011)

Em sentido inverso no estudo de Dixon, Goldberg, Schneiderman e Delamater, em 2004, realizado em crianças latinas entre 5 e 10 anos, foram encontrados valores mais baixos de TNF $\alpha$  nos doentes obesos do que nos de controlo. O estudo concluiu que devido à reduzida idade dos doentes e às mudanças hormonais recorrentes desse grupo etário, os resultados poderiam ter ficado de algum modo alterados. (Dixon, Goldberg, Schneiderman, & Delamater, 2004)

Hosick *et al* (2013), realizou estudo em crianças de peso normal que praticavam actividade física regular, concluindo-se que os valores de TNF $\alpha$  eram mais elevados do que em crianças obesas com menor actividade física, mas sem significância estatística. Também Modeér, Blomberg, Wondimu, Lindberg & Marcus (2011), reportaram que na análise do fluído crevicular de adolescentes, os valores de TNF $\alpha$  entre um grupo de doentes com obesidade e o grupo controlo não tinham diferenças estatisticamente significativas. (Hosick et al., 2013; Modéer, Blomberg, Wondimu, Lindberg, & Marcus, 2011)

Quanto ao facto de os grupos B (gengivite) e C (obesidade e gengivite) terem resultados mais baixos que o grupo D (controlo), os resultados vão de encontro aos reportados por Ulker, Tulunoglu, Ozmeric, Can & Demirtas (2008), que verificaram que na comparação do fluído crevicular de indivíduos entre os 11 e os 16 anos, com e sem gengivite, os valores de TNF $\alpha$  eram mais altos em doentes sem gengivite (controlo) do que nos doentes com gengivite, apesar de não haver significância estatística, e também nos resultados do estudo de Zimmermann, Bastos, Gonçalves, Chambrone & Duarte (2012), em doentes adultos, verificaram que no fluído crevicular, o valor de TNF $\alpha$  era maior em doentes obesos, com e sem periodontite, do que em doentes de peso normal. (Ulker et al., 2008; Zimmermann et al., 2012)

Em todos os grupos verificou-se uma correlação positiva, mas fraca e sem significância estatística entre o valor do TNF $\alpha$ . Sack et al (1998), verificou que num grupo de crianças saudáveis e livres de qualquer patologia inflamatória entre os 3 e os 17 anos, o valor do

TNF $\alpha$  tem uma correlação positiva com a idade, aumentando ao longo do tempo, com o pico do valor entre os 13 e os 14 anos de idade. (Sack et al., 1998)

Nos grupos A (doentes com obesidade), B (doentes com gengivite) e D (doentes controlo), a correlação entre o valor do TNF $\alpha$  e o índice de placa foi positiva, mas fraca e sem significância, ao contrário do que se passou no grupo C (doentes com obesidade e gengivite), em que a correlação foi positiva, mas forte e com significância estatística. Estes dados, juntamente com os descritos por vários autores, de que a placa aderida às superfícies dentárias, é a principal causa de inflamação gengival, apontam-nos no sentido de haver algum tipo de relação entre o valor de TNF $\alpha$  e o índice de placa. Apesar de um estudo de 1990, realizado por Rossomando, Kennedy & Hadjimichael, não verificar, em doentes adultos qualquer correlação entre o índice de placa e o valor de TNF $\alpha$ , em 2013, Ertugrul, Sahin, Dikilitas, Alpaslan & Bozoglan (2013), num grupo de doentes adultos com gengivite, verificaram uma correlação positiva entre o valor do índice de placa e o valor do TNF $\alpha$ , no fluido crevicular desses doentes. (Ertugrul, Sahin, Dikilitas, Alpaslan, & Bozoglan, 2013; Franchini, Petri, Migliario, & Rimondini, 2011; Rossomando, Kennedy, & Hadjimichael, 1990)

Nos Grupos A (doentes com obesidade), C (doentes com obesidade e gengivite) e D (doentes controlo) verificou-se uma correlação positiva, mas fraca e sem significância estatística entre o valor do TNF $\alpha$  e o valor do perímetro de cintura, ao contrário do que acontece no grupo B (doentes com gengivite), onde se verifica uma correlação negativa, também fraca e sem significância. Apesar de não se conseguir verificar a veracidade da correlação do grupo B, visto que não existem quaisquer artigos que façam esta correlação em doentes com gengivite, estudos indicam que, para doentes obesos, se verifica uma correlação positiva entre o TNF $\alpha$  e o perímetro da cintura, como no caso dos estudos realizados por Carrizo *et. al* (2013) e Kâ *et. al* (2013). (Carrizo et al., 2013; Kâ et al., 2013)

Nos grupos A e C, foi encontrada uma correlação positiva, apesar de fraca e sem qualquer significância estatística entre o valor de TNF $\alpha$  e o IMC, o que vai de encontro aos resultados referidos por Lundin, Yucel-Lindberg, Dahllöf, Marcus & Modéer (2004) e Alikashioglu, Gönç, Özön, Şem & Kandemir (2009), que em adultos e crianças obesas, respectivamente, verificaram correlações positivas entre estas duas variáveis. Já para o grupo D e B, verificou-se uma correlação negativa entre estas variáveis. Apesar de não

se ter encontrado nenhum estudo que avaliasse esta correlação em doentes com gengivite, para doentes saudáveis, Nemet *et al* (2003), verificou que o Índice de Massa Corporal estava positivamente correlacionado com o valor de TNF $\alpha$  em circulação sanguínea, em crianças entre os 12 e 14 anos. (Alikaşifoğlu, Gönç, Özön, Şen, & Kandemir, 2009; Lundin, Yucel-Lindberg, Dahllöf, Marcus, & Modéer, 2004; Nemet et al., 2003)

Ao nível da correlação entre o IMC e o IP, quase todos os grupos tiveram variação nos resultados. O grupo A, obteve uma correlação positiva, forte e com significância estatística, já o grupo C, obteve uma correlação positiva, mas fraca e sem significância, e os grupos B e D, obtiveram uma correlação negativa, fraca e sem significância estatística. Os estudos de Akhondi, Ettehad, Neyestani & Kamali (2008) e Saxlin, Ylöstalo, Suominen-Taipale, Mannistö & Knuutila (2011) demonstraram que em adultos obesos, não havia uma correlação estatisticamente significativa entre estas duas variáveis, acrescentando até esta correlação era fraca e inconsistente, o que pode ajudar, em parte a compreender os resultados obtidos no nosso estudo. (Sarlati, Akhondi, Ettehad, Neyestani, & Kamali, 2008; Saxlin, Ylöstalo, Suominen-Taipale, Manistö, & Knuutila, 2011)

Na correlação entre perímetro da cintura e índice de placa, o grupo A obteve um valor positivo, forte e com significância estatística enquanto que todos os outros grupos obtiveram valores não significativos, fracos, mas positivos. Estes dados são em parte semelhantes aos de Sarlati, Akhondi, Ettehad, Neyestani & Kamali (2008), que verificaram que num grupo de adultos jovens Iranianos obesos, existia uma correlação positiva entre o perímetro da cintura e o índice de placa. (Sarlati et al., 2008)

Ao nível da correlação entre o perímetro de cintura e o IMC, os grupos A, B e C, obtiveram valores de correlação positivos, fortes e com significância estatística, enquanto o grupo D, obteve um valor de correlação moderado, positivo, mas sem significância estatística. Estes dados são contrariados pelos apresentados por Giordano *et al* (2011) que não verificaram correlação significativa entre o IMC e o perímetro da cintura em crianças obesas entre os 2 e os 15 anos. (Giordano et al., 2011)

Quanto à correlação entre o valor da idade e o IMC, todos os grupos apresentaram valores de correlação sem significância estatística, positivos e fracos. Estudos como o de Gallagher *et al* (1996) e Guo & Chumlea (1999), apenas afirmam que o valor do IMC é

dependente da idade tendendo a aumentar com esta, não se encontrando nenhuma correlação para estas variáveis em estudos com doentes obesos, com gengivite ou com ambas as características concomitantemente. (Gallagher et al., 1996; Guo & Chumlea, 1999)

Tal como na correlação entre a idade e o IMC, o coeficiente de correlação entre a idade e o perímetro da cintura, foi em todos os grupos, fraco, positivo e sem significância estatística. Aplica-se para esta correlação o mesmo critério da anterior, visto que não existem estudos com correlação entre estas variáveis em doentes com gengivite e com ambas as patologias concomitantemente. Apenas o estudo de Sarlati, Akhondi, Ettehad, Neyestani & Kamali (2008) verificaram a presença de uma correlação positiva, entre o perímetro da cintura e a idade, num grupo de jovens Iranianos obesos. (Sarlati et al., 2008)

Na correlação entre a idade e o índice de placa, os grupos A e B apresentaram valores não significativos, negativos e fracos enquanto os grupos C e D apresentaram valores positivos, mas também fracos e sem significância estatística. Também nesta correlação a bibliografia pesquisada é fraca, tendo sido apenas encontrado um estudo de 1985, realizado por Matsson & Goldberg que verificou que num grupo de crianças entre os 4 e os 16 anos de idade os valores de índice de placa eram menores nos doentes mais novos, tendo tendência a aumentar com a idade. (Matsson & Goldberg, 1985)

As limitações deste estudo prendem-se em primeiro lugar pelo facto de se ter trabalhado com uma amostra reduzida de doentes (n=40) divididos por 4 grupos homogéneos (n=10), o que fez com que ao nível da análise estatística, muitos dos valores não tivessem qualquer significância estatística, devido ao reduzido número de indivíduos. Em segundo lugar, pelo facto de se estar a trabalhar com indivíduos entre os 9 e os 12 anos, os resultados podem ter ficado alterados visto que estes indivíduos se encontram num processo de crescimento constante, com consequentes alterações corporais, locais e sistémicas, que podem ter de algum modo influenciado os resultados deste estudo.

### **Análise da metodologia utilizada**

O primeiro factor a considerar é que nunca podemos excluir a possibilidade de existirem outros mediadores inflamatórios que estejam associados às patologias estudadas, como é o caso da IL-6, que aparece em muita da bibliografia consultada. (Hosick et al., 2013; Leishman et al., 2013; Mogi et al., 1999; Noh et al., 2013; Park, Park, & Yu, 2005; Sack et al., 1998; Soto-Méndez et al., 2015; Zimmermann et al., 2012)

Sobre a obesidade e sua avaliação, o método utilizado baseou-se na recolha dos dados antropométricos peso e altura, de modo a realização do cálculo do IMC, o que acontece na maioria dos estudos consultados (Carrizo et al., 2013; Franchini et al., 2011; Gallagher et al., 1996; Giordano et al., 2011; Guo & Chumlea, 1999; Hosick et al., 2013; Kose et al., 2015; Lundin et al., 2004; Mei et al., 2002; Nemet et al., 2003; Park et al., 2005; Sarlati et al., 2008; Saxlin et al., 2011; Zimmermann et al., 2012), sendo que se optou por usar também uma medida adicional, o perímetro da cintura (Amin, 2010; Daniels et al., 2000; Gocke et al., 2014; National Health and Nutrition Examination Survey, 2011; Park et al., 2005; Rito et al., 2010), que permite a avaliação da distribuição da gordura corporal. Este avalia o tecido adiposo visceral, metabolicamente mais activo e que assim liberta quantidades superiores de citocinas em comparação com o tecido adiposo cutâneo. (Berg & Scherer, 2005)

Os níveis de marcadores inflamatórios neste estudo também poderão ter sido influenciados pelo facto de para o mesmo valor de IMC, os indivíduos do sexo feminino apresentarem mais gordura corporal que o sexo masculino (Gallagher et al., 1996).

Os indivíduos estudados encontram-se numa faixa etária que passa por grandes mudanças corporais e conseqüentemente a nível das funções corporais. Assim, os resultados deste estudo podem ter sido afectados por alterações hormonais não despistáveis através do processo de recolha de dados e amostras salivares dos indivíduos. (Dixon et al., 2004)

Para avaliação da presença ou ausência de gengivite em cada indivíduo, foi utilizado o índice de placa de Sillness e Løe (Al-Haddad, Ibrahim, Al-Haddad, & Al-Hebshi, 2013; Ertugrul et al., 2013; Franchini et al., 2011; Kose et al., 2015; Leishman et al., 2013; Løe, 1967; Matsson & Goldberg, 1985; Saxlin et al., 2011), para que fosse possível a caracterização do valor de placa de cada indivíduo. Alguns estudos usam o *Visual Plaque Index* (VPI), para fazer a avaliação dos valores de placa de cada indivíduo (Modéer et al.,

2011; Zimmermann et al., 2012), mas este aparenta apenas ter a capacidade de avaliar a presença ou não de placa bacteriana, enquanto que o índice de placa de Sillness e Løe para além de avaliar a presença ou ausência de placa, avalia também o volume de placa existente, o que facilita a divisão dos doentes entre os grupos de estudo.

Grande parte dos estudos, busca uma relação entre a obesidade e a doença periodontal dum ponto de vista puramente observacional, não fazendo assim uma avaliação e comparação dos níveis de marcadores inflamatórios dos indivíduos estudados (Al-Haddad et al., 2013; Amin, 2010; Chiapinotto, Vargas-Ferreira, Demarco, Corrêa, & Masotti, 2013; Ekuni et al., 2014; Franchini et al., 2011; Matsson & Goldberg, 1985; Modéer et al., 2011; Nascimento et al., 2013; Nguyen, Lane, Smith, & Nguyen, 2009; Sarlati et al., 2008; Saxlin et al., 2011). Outros estudos apenas medem os mediadores inflamatórios para uma das patologias estudadas, obesidade (Carrizo et al., 2013; Dixon et al., 2004; Hosick et al., 2013; Nemet et al., 2003; Park et al., 2005) ou gengivite. (Erciyas et al., 2010; Ertugrul et al., 2013; Leishman et al., 2013; Mogi et al., 1999; Noh et al., 2013; Rossomando et al., 1990; Sack et al., 1998; Ulker et al., 2008)

Na maior parte da bibliografia, a medição das citoquinas é realizada através da recolha de sangue ou de fluído crevicular, e não através da saliva, onde há uma variação maior dos níveis destas moléculas, podendo assim ter feito variar os níveis de citoquinas obtidos nas amostras.(Chiappin et al., 2007)

Por último é preciso avaliar que apesar da inserção de factores de inclusão e exclusão neste estudo, podem sempre existir patologias sistémicas e outros factores que provoquem alterações dos níveis de marcadores inflamatórios na saliva, já que os níveis de citoquinas facilmente sofrem alterações.(Salminen et al., 2014)



## V - Conclusões

Com a realização deste estudo, foi possível confirmar que o mediador inflamatório TNF $\alpha$ , se encontra aumentado em doentes com obesidade, entre os 9 e os 12 anos, mas não podemos confirmar que o mesmo aconteça em casos de gengivite ou de presença de ambas as patologias concomitantemente.

Apesar de o TNF $\alpha$  apresentar níveis mais elevados na presença da obesidade, este não pode ser considerado um marcador específico para esta patologia, visto que os resultados não tiveram significância estatística.

Demonstrou-se ainda não haver significativa correlação entre o valor do TNF $\alpha$  e a idade dos doentes, verificando-se apenas uma correlação muito forte entre o valor do TNF $\alpha$  e o Índice de Placa em doentes com obesidade e gengivite.

Estes resultados demonstram e reforçam o quão importante são os mediadores inflamatórios e que, a sua representação na saliva pode ser um meio de, por um lado, facilitar o diagnóstico de variadas patologias, e por outro de servir como meio de prevenção para o aparecimento de patologia, tanto local como sistémica, contribuindo para a diminuição da morbidade na população. Salientamos o papel do médico dentista, como médico e não apenas como “dentista”, devendo estar assim, atento a tudo o que localmente possa provocar alterações sistémicas no doente, mas também a todas as patologias sistémicas que o doente possa apresentar, já que estas podem ser modificadoras da cavidade oral e da sua condição.

Devido à reduzida bibliografia nesta área e especialmente, nesta faixa etária, é necessária a realização de mais estudos, de preferência com amostras mais alargadas, que permitam, mais detalhadamente, dar-nos maior compreensão sobre este marcador inflamatório e sua função tanto na obesidade como na gengivite, nesta faixa etária.



**VI - Bibliografia**

- Al-Haddad, K. A., Ibrahim, Y. T., Al-Haddad, A. M., & Al-Hebshi, N. N. (2013). Assessment of Gingival Health Status among 5- and 12-Year-Old Children in Yemen: A Cross-Sectional Study. *ISRN Dentistry*, 2013. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=cookie,ip,shib&db=awn&AN=23878742&site=ehost-live>
- Alikaşifoğlu, A., Gönç, E. N., Özön, Z. A., Şen, Y., & Kandemir, N. (2009). The Relationship Between Serum Adiponectin, Tumor Necrosis Factor–Alpha, Leptin Levels and Insulin Sensitivity in Childhood and Adolescent Obesity: Adiponectin is a Marker of Metabolic Syndrome. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 1(5), 233–239. <http://doi.org/10.4274/jcrpe.v1i5.233>
- Amin, H. E.-S. (2010). Relationship between overall and abdominal obesity and periodontal disease among young adults. *Eastern Mediterranean Health Journal = La Revue de Sante de La Mediterranee Orientale = Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit*, 16(4), 429–433.
- Balas-nakash, M., Perichart-perera, O., Benitez-Arciniega, A., Tolentino-dolores, M., Mier-cabrera, J., & Vadillo-Ortega, F. (2013). Asociación entre adiposidad , inflamación y factores de riesgo cardiovascular en un grupo de escolares mexicanos. *Gaceta Médica de México*, 149, 196–203.
- Bastos, A. de A., Falcão, C. B., Pereira, A. L. A., Pereira, A. de F. V., & Alves, C. M. C. (2005). Obesidade e Doença Periodontal. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, 5(3), 275–279.
- Berg, A. H., & Scherer, P. E. (2005). Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation Research*, 96(9), 939–949. <http://doi.org/10.1161/01.RES.0000163635.62927.34>
- Canello, 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), 1141–1147. <http://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2006.01004.x>

- Carrizo, T. D. R., Díaz, E. I., Velarde, M. S., Prado, M. M., Bazán, M. C., & Abregú, A. V. (2013). Factor de necrosis tumoral alfa en una población infanto-juvenil com sobrepeso. *Medicina*, *73*, 310–314.
- Caruso, C., Balistreri, C. R., & Candore, G. (2010). The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators of Inflammation*, *2010*. <http://doi.org/10.1155/2010/802078>
- Carvalho, M. M., Padez, M. C., Moreira, P. A., & Rosado, V. M. (2007). Overweight and obesity related to activities in Portuguese children, 7-9 years. *European Journal of Public Health*, *17*(1), 42–46. <http://doi.org/10.1093/eurpub/ckl093>
- Chiapinotto, F. A., Vargas-Ferreira, F., Demarco, F. F., Corrêa, F. O. B., & Masotti, A. S. (2013). Risk factors for gingivitis in a group of Brazilian schoolchildren. *Journal of Public Health Dentistry*, *73*(1), 9–17. <http://doi.org/10.1111/jphd.12001>
- 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*, *383*, 30–40. <http://doi.org/10.1016/j.cca.2007.04.011>
- 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. <http://doi.org/10.1177/154405910408300214>
- Daniels, S. R., Khoury, P. R., & Morrison, J. a. (2000). Utility of different measures of body fat distribution in children and adolescents. *American Journal of Epidemiology*, *152*(12), 1179–1184.
- Direção Geral de Saúde. (2006). Actualização das curvas de crescimento, consultas de vigilância de saúde infantil e juvenil. Direcção Geral de Saúde. Retrieved from <http://www.dgs.pt>
- Dixon, D., Goldberg, R., Schneiderman, N., & Delamater, A. (2004). Gender differences in TNF-alpha levels among obese vs nonobese Latino children. *European Journal of Clinical Nutrition*, *58*, 696–699. <http://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601852>

- 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*, *41*(8), 772–778. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12273>
- 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. *Clin Invest Med*, *33*(2), 85–91.
- Ertugrul, A. S., Sahin, H., Dikilitas, A., Alpaslan, N., & Bozoglan, A. (2013). Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, *48*(1), 44–51. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01500.x>
- Esteves, P. (2011). *Obesidade - Revisao Bibliográfica*. Universidade da Beira Interior. Retrieved from <http://www.fcsaude.ubi.pt/thesis/upload../0/985/tesefinalpedroesteve.pdf>
- Fields, D. A., & Demerath, E. W. (2013). Breast-Milk With Infant Growth and Body Composition. *Pediatrics Obesity*, *7*(4), 304–312. <http://doi.org/10.1111/j.2047-6310.2012.00059.x>. Relationship
- 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*(5 Suppl), S192–S203. <http://doi.org/10.2223/JPED.1709>
- Franchini, R., Petri, A., Migliario, M., & Rimondini, L. (2011). Poor oral hygiene and gingivitis are associated with obesity and overweight status in paediatric subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, *38*(11), 1021–1028. <http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01770.x>
- Gajewska, E., Kalmus, G., Buraczynska-andrzejewska, B., & Sobieska, M. (2014). Obesity in adolescents from urban and rural areas – a comparison of physical fitness and markers of inflammation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *18*, 2318–2325.

- Gallagher, D., Visser, M., Sepúlveda, 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. <http://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a008733>
- George, F. (2013). Avaliação antropométrica no adulto. *Direção Geral de Saúde*.
- Giordano, P., Del Vecchio, G. C., Cecinati, V., Delvecchio, M., Altomare, M., De Palma, F., ... Faienza, M. F. (2011). Metabolic, inflammatory, endothelial and haemostatic markers in a group of Italian obese children and adolescents. *European Journal of Pediatrics*, 170, 845–850. <http://doi.org/10.1007/s00431-010-1356-7>
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.05.926>
- Goodson, J. M., Kantarci, A., Hartman, M. L., Denis, G. V., Stephens, D., Hasturk, H., ... Welty, F. (2014). Metabolic disease risk in children by salivary biomarker analysis. *PLoS ONE*, 9(6), 1–9. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0098799>
- Guo, S. S., & Chumlea, W. C. (1999). Tracking of body mass index in children in relation to overweight in adulthood. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(1), 145S–8S.
- Hosick, P., McMurray, R., Hackney, A., Battaglini, C., Combs, T., & Harrell, J. (2013). Resting IL-6 and TNF- $\alpha$  Level in Children of Different Weight and Fitness Status. *Pediatric Exercise Science*, 25(2), 238–247. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.021>. Secreted
- Kâ, K., Rousseau, M. C., Lambert, M., Tremblay, A., Tran, S. D., Henderson, M., & Nicolau, B. (2013). Metabolic syndrome and gingival inflammation in Caucasian children with a family history of obesity. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, 986–993. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12146>

- 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. <http://doi.org/10.1177/0022034511399908>
- Kose, O., Canackci, V., Canackci, C. F., Yildirim, A., Kermen, E., Arabaci, T., & Gungor, A. (2015). The Effects of Obesity on Local and Circulating Levels of Tumor Necrosis Factor-  $\alpha$  and Interleukin-6 in Patients with Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology & Implant Dentistry*, 7(1), 7–14. <http://doi.org/10.15171/jpid.2015.002>
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2010). *Pathologic Basis of Disease* (8<sup>a</sup> ed.). Filadélfia, EUA: Saunders Elsevier.
- Leishman, S. J., Seymour, G. J., & Ford, P. J. (2013). Local and systemic inflammatory responses to experimentally induced gingivitis. *Disease Markers*, 35(5), 543–549. <http://doi.org/10.1155/2013/948569>
- Leite, L., Rocha, E., & Neto, J. (2009). Obesidade : uma doença inflamatória Obesity : an inflammatory disease. *Revista Ciência & Saúde*, 2, 85–95.
- Lindhe, J. (2012). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. (J. Lindhe, N. P. . Lang, & T. Karring, Eds.) (5th Edition). Blackwell Munksgaard.
- Löe, H. (1967). The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *The Journal of Periodontology*, 38(6), 610–616. <http://doi.org/10.1902/jop.1967.38.6.610>
- Lumeng, C. N., & Saltiel, A. R. (2011). Review series Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *Life Sciences*, 121(6), 2111–2117. <http://doi.org/10.1172/JCI57132.In>
- Lundin, M., Yucel-Lindberg, T., Dahllöf, G., Marcus, C., & Modéer, T. (2004). Correlation between TNFa in gingival crevicular fluid and body mass index in obese subjects. *Acta Odontologica Scandinavica*, 62(5), 273–277. <http://doi.org/10.1080/00016350410000172>

- 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), 131–140.
- Matsson, L., & Goldberg, P. (1985). Gingival inflammatory reaction in children at different ages. *Journal of Clinical Periodontology*.
- Mei, Z., Grummer-Strawn, L. M., Pietrobelli, A., Goulding, A., Goran, M. I., & Dietz, W. H. (2002). Validity of body mass index compared with other body-composition screening indexes for the assessment of body fatness in children and adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75, 978–985. <http://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602839>
- Miraglia, F. (2012). *Avaliação da evolução de citocinas e marcadores inflamatórios em crianças e adolescentes obesos em tratamento clínico*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Modér, T., Blomberg, C., Wondimu, B., Lindberg, T. Y., & Marcus, C. (2011). Association between obesity and periodontal risk indicators in adolescents. *International Journal of Pediatric Obesity*, 6(2-2), e264–e270. <http://doi.org/10.3109/17477166.2010.495779>
- Mogi, M., Ootogoto, J., Ota, N., Inagaki, H., Minami, M., & Kojima, K. (1999). Interleukin 1-Beta, interleukin 6, Beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Archives of Oral Biology*, 44(6), 535–539. [http://doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)00020-5](http://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)00020-5)
- Mosleh-zadeh, K. (2014). Silness-Löe Index. Retrieved July 19, 2015, from <http://www.mah.se/CAPP/Methods-and-Indices/Oral-Hygiene-Indices/Silness-Loe-Index/>
- Nascimento, G. G., Seerig, L. M., Vargas-Ferreira, F., Correa, F. O. B., Leite, F. R. M., & Demarco, F. F. (2013). Are obesity and overweight associated with gingivitis occurrence in Brazilian schoolchildren? *Journal of Clinical Periodontology*, 40(12), 1072–1078. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12163>

- National Health and Nutrition Examination Survey. (2011). *Anthropometry procedures manual*. CDC. Retrieved from <http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/bm.pdf>
- Nemet, D., Wang, P., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., Tanaka, S., Engelman, L., & Cooper, D. M. (2003). Adipocytokines, body composition, and fitness in children. *Pediatric Research*, *53*(1), 148–152. <http://doi.org/10.1203/01.PDR.0000039766.53698.3D>
- Nguyen, X. M. 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. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, *13*(7), 1205–1212. <http://doi.org/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. <http://doi.org/10.3892/etm.2013.1222>
- Nunes, L. A. S., Mussavira, S., & Bindhu, O. S. (2015). Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochemia Medica*, *25*(2), 177–92.
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.11.007>
- Pezelj-Ribaric, S., Prso, I. B., Abram, M., Glazar, I., Brumini, G., & Simunovic-Soskic, M. (2004). Salivary levels of tumor necrosis factor-alpha in oral lichen planus. *Mediators of Inflammation*, *13*(2), 131–133. <http://doi.org/10.1080/09629350410001688530>
- Pfaffe, T., Cooper-White, J., Beyerlein, P., Kostner, K., & Punyadeera, C. (2011). Diagnostic potential of saliva: Current state and future applications. *Clinical Chemistry*, *57*(5), 675–687. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2010.153767>

- Rathnayake, N., Åkerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., ... Gustafsson, A. (2013). Salivary Biomarkers for Detection of Systemic Diseases. *PLoS ONE*, 8(4). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0061356>
- Rito, A., Breda, J., & Carmo, I. (2010). *Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil*. (I. N. de S. D. R. Jorge, Ed.).
- Rossomando, E. F., Kennedy, J. E., & Hadjimichael, J. (1990). Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Archives of Oral Biology*, 35(6), 431–434. [http://doi.org/10.1016/0003-9969\(90\)90205-O](http://doi.org/10.1016/0003-9969(90)90205-O)
- Sack, U., Burkhardt, U., Borte, M., Schädlich, H., Berg, K., & Emrich, F. (1998). Age-dependent levels of select immunological mediators in sera of healthy children. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(1), 28–32.
- Sala, E. C., & García, P. B. (2013). *Odontología Preventiva y Comunitária* (4ª Edição). Elsevier Masson.
- Salminen, A., Gursoy, U. K., Paju, S., Hyvärinen, K., Mäntylä, P., Könönen, E., ... Pussinen, P. J. (2014). Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(5), 442–450. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12234>
- Santos, P. P. D. A., Iglesias, D. P. P., Souza, E. L. De, Freitas, R. D. A., & Galvão, H. C. (2007). Saliva: métodos atuais para coleta e obtenção da amostra. *Revista Da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre*, 48(1/3), 95–98. Retrieved from <http://www.seer.ufrgs.br/RevistadaFaculdadeOdontologia/article/viewFile/7516/4799>
- Sarlati, F., Akhondi, N., Ettehad, T., Neyestani, T., & Kamali, Z. (2008). Relationship between obesity and periodontal status in a sample of young Iranian adults. *International Dental Journal*, 58(1), 36–40.
- Savva, S. C., Tornaritis, M., Savva, M. E., Kourides, Y., Panagi, a, Silikiotou, N., ... Kafatos, a. (2000). Waist circumference and waist-to-height ratio are better

- predictors of cardiovascular disease risk factors in children than body mass index. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders : Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 24(11), 1453–1458. <http://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801401>
- Saxlin, T., Ylöstalo, P., Suominen-Taipale, L., Manistö, S., & Knuuttila, M. (2011). Association between periodontal infection and obesity: Results of the Health 2000 Survey. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(3), 236–242. <http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01677.x>
- Scannapieco, F. a, & Panagakos, F. (2004). Periodontal inflammation: from gingivitis to systemic disease? *Compendium of Continuing Education in Dentistry (Jamesburg, N.J. : 1995)*, 25(7 Suppl 1), 16–25.
- Schipper, H. S., Nuboer, R., Prop, S., Van Den Ham, H. J., De Boer, F. K., Kesmir, Ç., ... Kalkhoven, E. (2012). Systemic inflammation in childhood obesity: Circulating inflammatory mediators and activated CD14<sup>++</sup> monocytes. *Diabetologia*, 55(10), 2800–2810. <http://doi.org/10.1007/s00125-012-2641-y>
- Sexton, W. M., Lin, Y., Kryscio, R. J., Dawson III, D. R., Ebersole, J. L., & Miller, C. S. (2011). Salivary Biomarkers of Periodontal Disease in Response to Treatment. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(5), 434 –441. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.021>.Secreted
- Silva, E. L. DA. (2012). *Fatores de risco à saúde cardiovascular associados ao sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes*. Universidade Federal de Pernambuco.
- Soto-Méndez, M. J., Romero-Abal, M. E., Aguilera, C. M., Rico, M. C., Solomons, N. W., Schümann, K., & Gil, A. (2015). Associations among Inflammatory Biomarkers in the Circulating, Plasmatic, Salivary and Intraluminal Anatomical Compartments in Apparently Healthy Preschool Children from the Western Highlands of Guatemala. *Plos One*, 10(6), 1–18. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0129158>

- Tam, C. S., Clément, K., Baur, L. a., & Tordjman, J. (2010). Obesity and low-grade inflammation: A paediatric perspective. *Obesity Reviews*, *11*(2), 118–126. <http://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00674.x>
- Ulker, A. E., Tulunoglu, O., Ozmeric, N., Can, M., & Demirtas, S. (2008). The evaluation of cystatin C, IL-1beta, and TNF-alpha levels in total saliva and gingival crevicular fluid from 11- to 16-year-old children. *The Journal of Periodontology*, *79*(5), 854–860. <http://doi.org/10.1902/jop.2008.070422>
- Vasques, C., Mota, M., Correia, T., & Lopes, V. (2012). Prevalence of overweight / obesity and its association with sedentary behavior in children. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, *31*(12), 783–788. <http://doi.org/10.1016/j.repce.2012.11.009>
- Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. (2003). Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, *112*(12), 1785–1788. <http://doi.org/10.1172/JCI200320514>
- Zimmermann, G. S., Bastos, M. F., Dias Gonçalves, T. E., Chambrone, L., & Duarte, P. M. (2012). Local and Circulating Levels of Adipocytokines in Obese and Normal Weight Individuals With Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology*, *84*(5), 1–14. <http://doi.org/10.1902/jop.2012.120254>

## VII - Anexos

11

Ex.mo Senhor  
**Rui Miguel Oliveira Gordo**

Monte de Caparica, 02 de fevereiro de 2015

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 "*Pesquisa na saliva de TNFa em pacientes com gengivite e obesidade infantil*", foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz



---

Prof.ª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

c.c. – Prof.ª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita



## INFORMAÇÃO AO DOENTE

### **Por favor leia atentamente,**

Rui Miguel Oliveira Gordo, aluno do 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária do 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 unidade curricular de Orientação Tutorial de Projecto Final. O projecto Final tem como tema ***"Pesquisa na saliva de TNFa em pacientes com gengivite e obesidade infantil"***, sendo orientado pela Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita e coorientado pela Professora Doutora Irene Ventura, docentes do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

Será efectuada 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 medidores inflamatórios de interesse, que na mesma estão presentes. Estes exames clínicos de fácil execução, indolores e não invasivos, terão uma duração aproximada de 30 minutos, na sua execução.

Os resultados obtidos serão alvo de análise estatística, não sendo os dados pessoais 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, directamente 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);

Agradecemos o tempo disponibilizado na leitura deste documento.

*Pela equipa de investigação*

---



## Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17\_02

Monte de Caparica, 12 de Janeiro de 2015

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do 5º ano do **Mestrado Integrado em Medicina Dentária (MIMD)** na Unidade Curricular de **"Orientação Tutorial de Projecto Final"** do Instituto Superior de Ciências de Saúde Egas Moniz (ISCSEM), sob a orientação da **Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita** e coorientação da **Prof. Doutora Irene Ventura**, solicita-se autorização para a participação no estudo **"Pesquisa na saliva de TNF $\alpha$  em pacientes com gengivite e obesidade infantil"**

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 infantil/adolescente da Clínica Universitária Egas Moniz;
3. Avaliar a presença de Gengivite (G), na população infantil/adolescente 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 Gengivite;
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;



## Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17\_02

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 projecto;
2. O estudo tem como objectivo contribuir de forma directa e indirecta 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 efectuados 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 avaliação da presença de gengivite; 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 avaliada a presença de gengivite e a quantidade de saliva;



## Consentimento Informado

Código | IMP:EM,PE.17\_02

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 gengivite e da obesidade, nesta população e compreender a relação que o mediador inflamatório TNF $\alpha$  tem em ambas as doenças

Pensamos assim poder contribuir para o estudo do interesse científico e social, que ambas as doenças têm, associados às mesmas um mediador clínico inflamatório, já descrito anteriormente, como factor 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 pai/mãe ou tutor legal)*

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Código Controlo: \_\_\_\_\_

**“Pesquisa na saliva de TNF $\alpha$  em pacientes com gengivite e obesidade infantil”**

Questionário

Idade: \_\_\_\_\_

Morada: \_\_\_\_\_

Frequência de Escovagem:

- 1 vez /dia
- 2 vezes /dia
- 3 ou mais vezes /dia
- Outras: \_\_\_\_\_

A Escovagem é:

- Voluntária
- Involuntária

A Escovagem é:

- Supervisionada
- Não Supervisionada

Uso de Fio Dentário

- Sim
- Não

Prática de Exercício Físico:

- Nº de horas semanais:
  - Dentro do horário lectivo: \_\_\_\_\_ h \_\_\_\_\_ min
  - Fora do horário lectivo: \_\_\_\_\_ h \_\_\_\_\_ min

Consumo de Bebidas Açucaradas:

- A todas as refeições do dia
- A todas as refeições do dia e fora das refeições
- Apenas aos fins-de-semana
- Raramente

Consumo de Alimentos Açucarados (Rebuçados, Chocolates, Gelados,...):

- Mais que uma vez por dia
- Uma vez por dia
- Apenas aos fins-de-semana
- Raramente

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Código Controlo: \_\_\_\_\_

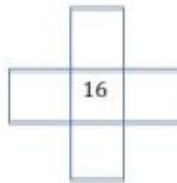
### Folha de Registo de Dados

Dados Antropométricos

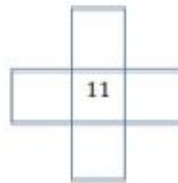
	Medição 1	Medição 2	Média
<b>Altura (m)</b>			
<b>Peso (kg)</b>			
<b>Per. Cintura (cm)</b>			

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (kg)}}{(\text{altura (m)})^2} = \frac{\quad}{(\quad)^2} = \quad$$

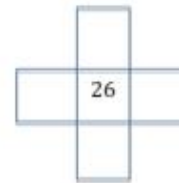
Índice Gingival:



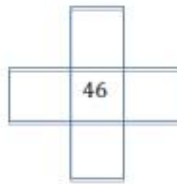
$$\frac{+ + +}{4} = \quad$$



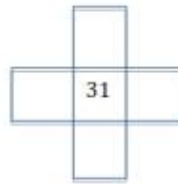
$$\frac{+ + +}{4} = \quad$$



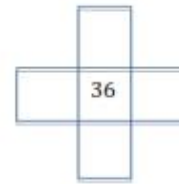
$$\frac{+ + +}{4} = \quad$$



$$\frac{+ + +}{4} = \quad$$



$$\frac{+ + +}{4} = \quad$$



$$\frac{+ + +}{4} = \quad$$

$$\text{IG} = \frac{+ + + + +}{6} = \quad$$

Fluxo Salivar:

Estimulado: \_\_\_\_\_ ml  
Não Estimulado: \_\_\_\_\_ ml

Doseamentos:

TNF $\alpha$ : \_\_\_\_\_