

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE – MESTRADO  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM  
PROMOÇÃO DA SAÚDE**

Tatiana Thier de Borba

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E DE OUTRAS ALTERAÇÕES NUCLEARES  
COMO MARCADORES DA ESTABILIDADE GENÔMICA EM INDIVÍDUOS COM  
DOENÇA PERIODONTAL: ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DO ESTILO  
DE VIDA E NÍVEL SOCIOECONÔMICO**

Santa Cruz do Sul

2017

Tatiana Thier de Borba

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E DE OUTRAS ALTERAÇÕES NUCLEARES  
COMO MARCADORES DA ESTABILIDADE GENÔMICA EM INDIVÍDUOS COM  
DOENÇA PERIODONTAL: ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DO ESTILO  
DE VIDA E NÍVEL SOCIOECONÔMICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Promoção de Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Promoção da Saúde.

Orientador: Dr<sup>a</sup>. Silvia Isabel Rech Franke  
Co-orientador: Dr. Daniel Prá  
Colaborador: Dr. Leo Kraether Neto

Santa Cruz do Sul

2017

Tatiana Thier de Borba

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E DE OUTRAS ALTERAÇÕES NUCLEARES  
COMO MARCADORES DA ESTABILIDADE GENÔMICA EM INDIVÍDUOS COM  
DOENÇA PERIODONTAL: ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DO ESTILO  
DE VIDA E NÍVEL SOCIOECONÔMICO**

Esta dissertação será submetida ao Programa de Pós-Graduação em Promoção de Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Promoção da Saúde.

Orientador: Dr<sup>a</sup>. Silvia Isabel Rech Franke  
Co-orientador: Dr. Daniel Prá

**Banca examinadora**

Dra. Silvia Isabel Rech Franke  
Professor Orientador - UNISC

Dr. Daniel Prá  
Professor Co-orientador - UNISC

Leo Kraether Neto  
Professor examinador - UNISC

Luciane Macedo de Menezes  
Professor examinador – PUCRS

Santa Cruz do Sul

2017

## AGRADECIMENTOS

Agradecer é uma das mais belas virtudes do ser humano que, sempre que possível, deve mostrar reconhecimento para com aqueles que lhe prestaram um auxílio. Sendo assim, não poderia deixar de agradecer à todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Primeiramente agradeço a Deus que permitiu que tudo isto acontecesse, ao longo de minha vida, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades!

À esta Universidade, seu corpo docente, direção e administração pela oportunidade que me foi proporcionada de realizar este curso, fica o meu muito obrigada!

À minha orientadora, Prof. Dra. Silvia Isabel Rech Franke pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho, pela orientação, apoio e confiança, o meu eterno respeito, gratidão e admiração!

Ao Prof. Dr. Daniel Prá, sou grata pela oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho. E que, por mais afastado que estivesse, sempre fez contribuições valiosas!

Ao Prof. Dr. Leo Kraether Neto que desde a graduação me incentivou a fazer pesquisa, indicando os caminhos deste mundo fascinante que é a ciência propriamente dita. Agradeço cada contribuição, tanto neste projeto, quanto em outros, ao longo da minha jornada. És meu exemplo de profissionalismo, ética e serei eternamente grata por tudo!

A querida Patrícia Molz pelo paciente trabalho de revisão da redação e auxílio nas análises estatísticas, meu muito obrigada!

As bolsistas do Laboratório de Nutrição Experimental pelo auxílio em todo processo do ensaio de micronúcleos, desde o preparo do material das coletas, confecção e análise das lâminas... Sou grata por tudo!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de mestrado!

Aos meus pais, que me deram a vida, pelo amor, incentivo e apoio incondicional!

Obrigada a minha irmã e afilhada, por, naquelas horas em que estive ausente, dedicando-me ao mestrado, compreenderem que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Ao meu noivo, agradeço por entender minha ausência em alguns momentos que, não foram poucos, e existiram mesmo eu estando dentro de casa, passando horas em frente ao computador! Por sua paciência enquanto eu tentava cumprir prazos, por me ajudar com questões técnicas de computador e ainda ter a disposição de cozinhar para gente com todo carinho! Enfim meu muito obrigada de coração!

E também a todos aqueles que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, obrigada!

*Dedico este trabalho a todos aqueles que, de uma forma ou de outra, estiveram ao meu lado durante toda esta jornada, especialmente aos meus pais Fábio e Rosvita, provedores da minha formação pessoal e profissional!*

*Também dedico ao Prof. Dr. Leo pelos grandes ensinamentos e incentivo e a Prof. Dra. Silvia pela oportunidade de ser sua orientanda durante toda realização deste trabalho!*

*Toda reforma interior e toda mudança para melhor dependem  
exclusivamente da aplicação do nosso próprio esforço.*

IMMANUEL KANT

## RESUMO

A periodontite é uma doença crônica inflamatória de natureza multifatorial. Pode ser modificada por numerosos fatores de risco, entre os quais o fumo, o *diabetes*, determinadas bactérias patogênicas e, também, por questões sociodemográficas e características do estilo de vida. A ativação do sistema imune e a reação bactericida que ocorrem na periodontite, contribuem para o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio. Estas, têm modificado bases no DNA, formando micronúcleos que podem ser identificados pela análise de células esfoliadas da mucosa oral. Diante disto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito das doenças periodontais, conforme sua severidade, sobre a ocorrência de danos no DNA e, também associar esta variável às características do estilo de vida, ao índice de massa corporal e ao nível socioeconômico. Para tanto, realizou-se um estudo transversal com 77 pacientes do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, que foram divididos em: grupo saúde (26 indivíduos), grupo doença periodontal moderada (26 indivíduos) e grupo doença periodontal severa (25 indivíduos). Todos foram submetidos a questionários autorreferidos, ao exame clínico periodontal e ao ensaio de citoma de micronúcleos bucal (BMCyt). Os resultados do presente estudo indicaram que o status socioeconômico mais baixo dos indivíduos foi fortemente associado à presença de doença periodontal e, ainda, que o processo inflamatório que ocorre na periodontite não aumentou significativamente a frequência de micronúcleos. Entretanto, gerou danos ao DNA, o que foi verificado pelo aumento significativo de brotos nucleares entre o grupo periodontite severa quando comparado com o grupo periodontite moderada. Sendo assim, conclui-se que há indícios de efeitos genotóxicos pela infecção periodontal, conforme a sua severidade.

**Palavras-chave:** ensaio citoma de micronúcleos; periodontite; nível socioeconômico; fumo.



## ABSTRACT

Periodontitis is a chronic inflammatory disease of multifactorial nature. It can be chanded due to numerous risk factors, among them smoking, *diabetes*, certain pathogenic bacteria, and also by socio-demographic issues and lifestyle characteristics. The activation of the immune system and the bactericidal reaction occurring in periodontitis contribute to the increase in the production of reactive oxygen species. These have modified bases in the DNA, forming micronucleus that can be identified by the analysis of exfoliated cells of the oral mucosa. The aim of the present study was to evaluate the effect of periodontal diseases, according to their severity, the occurrence of DNA damage and also to associate this variable with the characteristics of lifestyle, body mass index and socioeconomic level. A cross-sectional study was carried out with 77 patients from the Dental School of the University of Santa Cruz do Sul, RS, Brazil, who were divided into: health group (26 individuals), moderate periodontal disease group (26 individuals), and severe periodontal disease group (25 individuals). All individuals were submitted to self-referenced questionnaires and periodontal clinical examination and also to the oral micronucleus cytome (BMCyt) assay. The results of the present study indicated that the lower socioeconomic status of the individuals was strongly associated to the presence of periodontal disease and also that the inflammatory process that occurs in periodontitis did not significantly increase the frequency of micronuclei. However, it caused damage to the DNA, which was verified by the significant increase nuclear buds in the severe periodontitis group when compared to the moderate periodontite group. Thus, it is concluded that there are indications of genotoxic effects due to periodontal infection, according to their severity.

**Keywords:** micronucleus assay; periodontitis; socioeconomic level; smoke.

## LISTA DE TABELAS

### TABELAS DO ARTIGO I

**Tabela 1.** Distribuição da amostra de acordo com sexo, faixa etária, etnia e doenças sistêmicas..... 57 e 58

**Tabela 2.** Descrição da amostra de acordo com hábitos do estilo de vida (fumo, álcool), com o IMC, nível socioeconômico, grau de escolaridade e o número de dentes presentes.... 58 e 59

### TABELAS DO ARTIGO II

**Tabela 1.** Distribuição da amostra de acordo com sexo, faixa etária, consumo de tabaco, álcool e IMC..... 77

**Tabela 2.** Média, desvio padrão e mediana das células binucleadas, brotos nucleares, micronúcleos, células picnóticas, cariolíticas e células cariorréticas nos diferentes grupos. p: nível de significância de acordo com o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn..... 78

.

## LISTA DE FIGURAS

### FIGURAS DO PROJETO

<b>Figura 1</b> - Representação esquemática de um processo de periodontite explorado através de uma sonda para determinação da perda de inserção óssea.....	19
<b>Figura 2</b> - Representação esquemática dos tipos celulares no teste de micronúcleos.....	22
<b>Figura 3</b> - Epitélio da mucosa bucal.....	23
<b>Figura 4</b> - Alterações nucleares em células do epitélio oral.....	24
<b>Figura 5</b> - Sondagem Periodontal.....	34

### FIGURAS DO ARTIGO II

<b>Figura 1.</b> Relação entre a frequência de micronúcleos (a), células binucleadas (b), brotos nucleares (c), pontes nucleares (d), células picnóticas (e), células cariolíticas (f), células cariorréticas (g) e total de danos (h) entre os grupos. r: coeficiente correlação e p: nível de significância de acordo com o teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.....	78
<b>Figura 2.</b> Correlação entre a severidade da doença periodontal e frequência de células binucleadas (A), brotos nucleares (B) e células picnótica (C). r e p: coeficiente de correlação e nível de significância de acordo com o teste de Spearman.....	79
<b>Figura 3.</b> Correlação entre a severidade da doença periodontal e o total de células com dano. r e p: coeficiente de correlação e nível de significância de acordo com o teste de Spearman...	79

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

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

**IL**: interleucina (IL)

**IL-1 $\beta$** : interleucina1 beta

**IL-6**: interleucina 6

**ERO**: espécies reativas de oxigênio

**PMN**: leucócitos polimorfonucleares neutrófilos

**BMCyt**: ensaio citoma de micronúcleos bucal

**NPB**: pontes nucleoplásmicas

**IMC**: índice de massa corporal

**CAL**: perda de inserção clínica

**LPS**: lipopolissacarídeos

**PCR**: proteína C reativa

**CECP**: carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço

**ABEP**: Associação Brasileira das Empresas de Pesquisa

**WHO**: *World Health Organization*

**JCE**: junção cimento-esmalte

**PIC**: perda de inserção clínica

**RG**: retração gengival

**CEP**: Comitê de Ética em Pesquisa

**UNISC**: Universidade de Santa Cruz do Sul

**TCLE**: Termo de consentimento livre e esclarecido

**EPI**: equipamento de proteção individual

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	IV
<b>DEDICATÓRIA</b> .....	VI
<b>RESUMO</b> .....	VIII
<b>ABSTRACT</b> .....	IX
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	X
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	XI
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	XII
<b><u>CAPÍTULO I</u></b>	
<b>PROJETO DE PESQUISA</b> .....	14
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. MARCO TEÓRICO.....	19
3. OBJETIVOS.....	30
4. MÉTODO.....	31
5. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO.....	37
6. RECURSOS HUMANOS e INFRA-ESTRUTURA.....	38
7. ORÇAMENTO/RECURSOS MATERIAIS.....	39
8. RESULTADOS E IMPACTOS ESPERADOS.....	40
9. RISCOS/DIFICULDADES/LIMITAÇÕES.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
<b><u>CAPÍTULO II</u></b>	
<b>RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO</b> .....	50
<b><u>CAPÍTULO III</u></b>	
<b>ARTIGO I</b> .....	53
<b>ARTIGO II</b> .....	64
<b><u>CAPÍTULO IV</u></b>	
<b>NOTA À IMPRENSA</b> .....	81
<b><u>CAPÍTULO V</u></b>	
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	83
<b>ANEXOS</b>	
ANEXO I – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	85
ANEXO II – Questionário auto referido.....	87
ANEXO III – Questionário ABEP.....	88
ANEXO IV – Autorização da coordenadora do Curso de Odontologia.....	89
ANEXO V – Autorização do Laboratório de Nutrição Experimental.....	90
ANEXO VI – Orçamento/Recursos materiais.....	91
ANEXO VII – Instruções- Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção.....	92
ANEXO VIII – Instruções para autores- Journal of Periodontology.....	100

**CAPÍTULO I**  
**PROJETO DE PESQUISA**

Tatiana Thier de Borba

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS E DE OUTRAS ALTERAÇÕES NUCLEARES  
COMO MARCADORES DA ESTABILIDADE GENÔMICA EM INDIVÍDUOS COM  
DOENÇA PERIODONTAL: ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DO ESTILO  
DE VIDA E NÍVEL SOCIOECONÔMICO**

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Mestrado, Área de Concentração em Promoção de Saúde, Linha de Pesquisa Biodinâmica Humana.

Orientador: Dr<sup>a</sup>. Silvia Isabel Rech Franke  
Co-orientador: Dr. Daniel Prá  
Colaborador: Dr. Leo Kraether Neto

Santa Cruz do Sul

2015

## 1 INTRODUÇÃO

O termo “doença periodontal” é usado para abranger as diversas condições patológicas que acometem as estruturas do periodonto de proteção e/ou sustentação (DIAS; PIOL; ALMEIDA, 2006), sendo que a periodontite crônica é um dos tipos destrutivos da doença, cuja severidade é caracterizada com base na quantidade de perda de inserção clínica, medida através da distância da junção cimento-esmalte até o fundo da bolsa periodontal (ARMITAGE, 2004). Trata-se de uma doença infecciosa causada por bactérias anaeróbias, predominantemente Gram-negativas e, conforme a Academia Americana de Periodontologia (1999), a periodontite envolve sinais locais de inflamação com sangramento à sondagem, além da destruição tecidual, presença de bolsa periodontal e perda de inserção clínica.

Na patogênese da periodontite os antígenos bacterianos modulam a resposta do hospedeiro induzindo o aumento das seguintes citocinas pró-inflamatórias: fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e IL-6 (PAGE; KORNMAN, 1997). Estas moléculas contribuem para a destruição dos tecidos moles e duros periodontais, para a mobilidade dentária e para a perda dos dentes (CORBI et al., 2014). Então, a ativação do sistema imune e a reação bactericida, que ocorrem na periodontite, contribuem para o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e para o estresse oxidativo (HALLIWEL, 2000; CHAPPLE; MATTHEWS, 2007). As EROs formadas (radicais H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e OH) são potentes oxidantes que têm afetado ácidos nucleicos e modificado bases no DNA, danificando-os e formando micronúcleos. Também tem sido sugerido que os leucócitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN), que são liberados pela resposta imuno-inflamatória do hospedeiro (PAGE; KORNMAN, 1997), produzem e liberam uma grande quantidade de ERO, culminando em dano oxidativo do tecido gengival, ligamento periodontal e osso alveolar (SCULLEY; LANGLEY-EVANS, 2002). As ERO são ativas, também, na despolimerização dos componentes da matriz extracelular, na peroxidação lipídica, em oxidação de enzimas, tais como anti-proteases, na indução de citocinas pró-inflamatórias e em danos no DNA (CANAKÇI et al., 2006).

Portanto, como o estresse oxidativo está intrinsecamente relacionado com a patogenia da periodontite (SAINTOT, 1996), parece interessante avaliar a ocorrência de danos no DNA e sua relação com esta doença. Um dos métodos mais estabelecidos para avaliar os danos ao DNA é o ensaio citoma de micronúcleos bucal (BMCyt), que analisa danos nos cromossomas *in vivo* e tem sido usado para testar a integridade do DNA, após exposição celular à radiação, substâncias tóxicas e outras situações de estresse (CORBI et al., 2014). O teste baseia-se na



identificação de um núcleo secundário, que pode ser originado durante a anáfase de cromossomos acêntricos atrasados ou fragmentos de cromátídeos causadas por quebras de DNA. A separação anômala de cromossomos inteiros na anáfase também pode levar à formação de micronúcleos, como resultado da hipometilação de sequências repetidas em DNA centromérico e pericentromérico, defeitos nas proteínas cinetócoro ou montagem, fuso disfuncional e genes do *checkpoint* (ponto de inspeção) da anáfase defeituosos. Pontes nucleoplásmicas (NPB) originadas a partir de cromossomos dicêntricos, que podem ocorrer devido a quebras de DNA ou fusões finais dos telômeros, podem ser observadas quando a separação defeituosa de cromátides irmãs na anáfase ocorre devido a falhas de ligação (FENECH et al., 2011).

É válido destacar que o dano ao DNA representa um evento crítico associado não somente a fase de iniciação, mas também as fases de promoção e progressão de eventos da carcinogênese (ZAMORA-PERES et al., 2015). Neste sentido, estudos recentes têm associado à periodontite com os cânceres de cabeça e pescoço (GONDIVKAR et al., 2013), de pâncreas (MICHAUD et al., 2007) e câncer de cólon (KOSTIC; GEVERS; PEDAMALLU, 2012) o que torna relevante a importância da boa saúde oral e o controle desta doença.

Também tem se pesquisado como os fatores sociodemográficos, o índice de massa corporal (IMC) e o estilo de vida podem influenciar nos hábitos e na saúde periodontal das pessoas. Haas et al. (2012) verificaram a influência da idade e do sexo dos indivíduos na prevalência, extensão e gravidade da periodontite. Susin et al. (2004), por sua vez, concluíram em seu estudo que a renda e o nível educacional, assim como a raça também podem indicar a probabilidade dos indivíduos terem periodontite e que o efeito do fumo na saúde periodontal é dependente da relação dose-resposta e do tempo de exposição ao longo da vida. Além disso, a obesidade, verificada através do IMC, é outro achado importante de uma meta-análise que indicou uma maior probabilidade destes indivíduos terem doença periodontal destrutiva (CHAFFEE; WESTOM, 2010).

Na literatura atual, poucos estudos têm investigado o dano ao DNA, através de micronúcleos em pacientes com periodontite. Por isto, é importante ressaltar a necessidade de se realizar pesquisas para validar esta prática. Além disso, a pesquisa de micronúcleos nas células orais é minimamente invasiva e bastante promissora na monitorização de populações expostas a agentes genotóxicos como a doença periodontal (THOMAS et al., 2009). Portanto, justifica-se investigar se a periodontite poderia, realmente, induzir a formação de micronúcleos e, também, se o diagnóstico de tal condição, conforme sua severidade, poderia servir como biomarcador da estabilidade genômica.

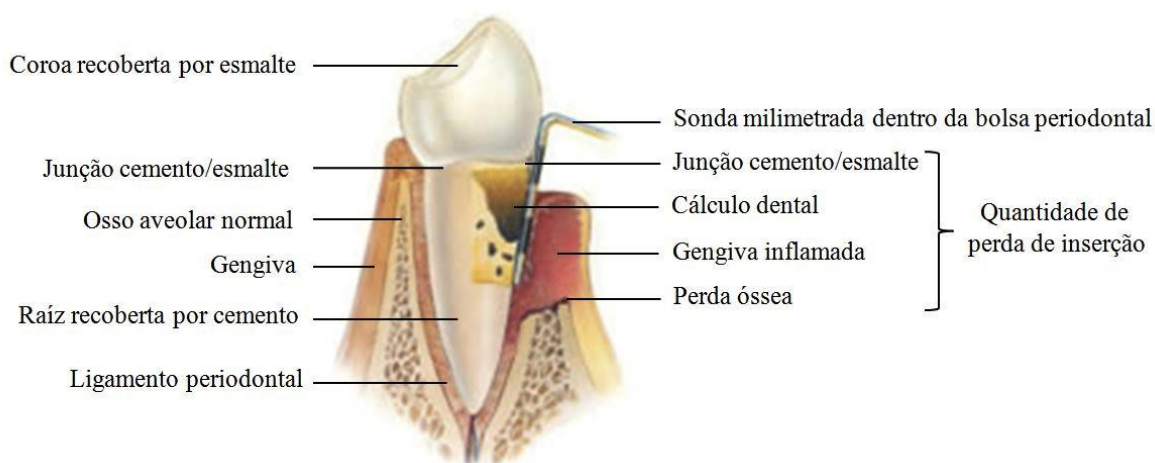
Diante do exposto, o presente estudo pretende elucidar o seguinte **problema**: será que a frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares em células da mucosa oral difere entre os pacientes saudáveis e com doença periodontal? Qual a associação entre esta variável, o IMC e as características do estilo de vida e do nível socioeconômico?

## 2 PERIODONTITE, MICRONÚCLEOS E INTERDISCIPLINARIDADE

### 2.1 Doença periodontal

Doença periodontal é um nome genérico que engloba uma série de patologias que acometem o periodonto (Figura 1). Periodonto, segundo Louro et al. (2001), é a denominação dada aos tecidos que circundam o dente, ou seja, a gengiva, o osso alveolar, o cimento e o ligamento periodontal (fibras que unem a gengiva e o osso alveolar ao cimento). Embora existam inúmeras doenças periodontais, este estudo irá focar na periodontite que afeta, além do periodonto de proteção (gengiva), o periodonto de sustentação, representado pelos tecidos duros do periodonto (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar).

Figura 1 - Representação esquemática de um processo de periodontite explorado através de uma sonda para determinação da perda de inserção óssea.



Fonte: adaptado de LOURO et al. (2001).

Portanto, a periodontite pertence a um grupo de doenças inflamatórias crônicas que afetam os tecidos de suporte dos dentes e possuem manifestações clínicas comuns (SUSIN et al., 2004). É uma infecção bacteriana que promove inflamação e destruição local, podendo, eventualmente, levar a perda do dente. As características clínicas da periodontite incluem edema da margem gengival, sangramento à sondagem ou espontâneo, retração gengival, mobilidade dentária e presença de bolsa periodontal, enquanto as características histopatológicas incluem localização do epitélio juncional apical a junção cemento-esmalte, perda de fibras de colágeno subjacente ao epitélio da bolsa e um denso infiltrado inflamatório com neutrófilos, linfócitos e macrófagos (PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHNSON,

2005).

O fator etiológico primário da periodontite é uma infecção bacteriana, causada especialmente por micro-organismos específicos, tais como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (RUBIRA et al., 1996) que, presentes no biofilme das superfícies dentárias, estão associados com as diversas formas de periodontite em um indivíduo suscetível. Os mecanismos patogênicos da periodontite estão associados a citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores que modulam a destruição dos tecidos gengivais, o ligamento periodontal e a reabsorção do osso alveolar, sendo que a gravidade da doença é determinada parcialmente pela resposta imuno-inflamatória do hospedeiro frente ao patógeno (PAGE; KORNMAN, 1997).

A prevalência das doenças periodontais varia significativamente em diferentes regiões no mundo (ALBANDAR; RAMS, 2002) e há indicadores de que a doença pode ser mais prevalente em países em desenvolvimento do que nos desenvolvidos. Nos Estados Unidos 19,9% e 7,3% dos indivíduos, com idade entre 30 e 90 anos, tem perda de inserção clínica (CAL)  $\geq 5$  e  $\geq 7$ mm, respectivamente (ALBANDAR, 2002). No Reino Unido, estima-se que 42% dos sujeitos entre 35 e 44 anos de idade e 70% daqueles com 55 a 64 anos tenham CAL  $> 3,5$ mm (MORRIS; STEELE; WHITE, 2001). Apesar de não existir muita informação com relação a ocorrência das doenças periodontais nos países em desenvolvimento, alguns dados foram demonstrados por Susin et al. (2004) que identificaram em uma amostra representativa de adultos do Rio Grande do Sul (974 indivíduos) que aproximadamente 97%, 79% e 52% dos sujeitos tiveram CAL  $\geq 3$ mm,  $\geq 5$ mm e  $\geq 7$ mm, respectivamente.

Diversos fatores de risco e indicadores de risco têm sido associados com a ocorrência de formas de destruição periodontal. Fortes evidências indicam que o fumo e o *diabete mellitus* são importantes fatores de risco para CAL. Outros fatores incluindo idade, sexo, raça, status socioeconômico e educacional, além de bactérias subgengivais específicas, também têm sido associados com doenças periodontais, mas não estão totalmente substanciados na literatura (OPPERMANN et al., 2015). Os patógenos periodontais e os produtos bacterianos, como os lipopolissacarídeos (LPS), ganham acesso aos tecidos gengivais à medida que a infecção avança e estimulam uma resposta inflamatória que caracteriza-se pela infiltração de neutrófilos, macrófagos, linfócitos e mastócitos. Além disso, fatores envolvidos na infecção, como fímbrias de *P. gingivalis* e LPS, podem estimular os macrófagos a sintetizar citocinas (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) e metaloproteinases da matriz, que potencializam a condição inflamatória. Dentre as citocinas, a IL-6 merece destaque por estimular a síntese de proteínas de fase aguda,

em particular, a proteína C reativa (PCR) (PARASKEVAS; HUIZINGA; LOOS, 2008). Sloan et al. (2010) afirmaram que, em processos inflamatórios, por ocorrer divisão celular repetida, podem ser vistos erros no processo de mitose e conseqüentemente, alterações cromossômicas que, em geral, estimulam a apoptose. Pela constante renovação tecidual, a apoptose garante a homeostase tecidual; entretanto esta ocorrência, em frequência aumentada, pode ser um indicativo de efeitos genotóxicos que são relatados na iniciação de processos de transformação maligna (MATSUMOTO et al., 2010).

Segundo Weinberg (1998), citado por Brandão et al. (2015, p. 220),

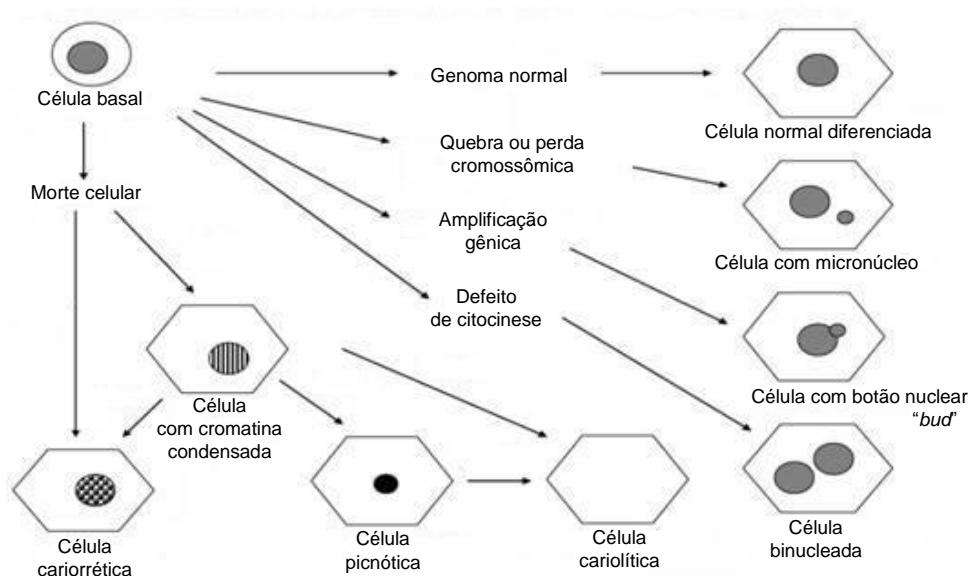
eliminando células com alterações genéticas, que podem incluir genes comprometidos no reparo do DNA e/ou no controle de diferenciação e proliferação celular (proto-oncogenes e supressores de tumor), a apoptose constitui um mecanismo protetivo contra o câncer, resultando de mutações genéticas e/ou cromossômicas envolvendo tais genes .

Poucos estudos têm sido conduzidos objetivando investigar a associação entre doenças periodontais e a ocorrência de micronúcleos e mudanças nucleares indicativas de apoptose (D'AGOSTINI et al., 2013). Zamora-Peres et al. (2015) observaram alta incidência de micronúcleos, células cariorréticas e cromatina condensada em indivíduos com periodontite agressiva e com periodontite crônica quando comparados com indivíduos sem doença periodontal. Além disso, é muito importante considerar a associação entre as lesões no material genético induzidas pelos processos inflamatórios e sua contribuição para o desenvolvimento do câncer (COLOTTA et al., 2009; MORRISON, 2012).

Evidências (AKALIN, et al. 2007; SEZER; CIÇEK; CANAKÇI, 2012) têm indicado que, na periodontite, ERO derivadas predominantemente de neutrófilos estão envolvidos na destruição dos tecidos periodontais. Portanto, o estresse oxidativo é aumentado na periodontite, o que pode resultar em danos ao DNA, incluindo a oxidação de nucleosídeos que pode causar quebra na fita do DNA (DANDONA et al., 1996). Este tipo de dano pode ter conseqüências teratogênicas ou carcinogênicas (EYFJORD; BODVARSDOTTIR, 2005). Como já foi afirmado, o ensaio de citoma de micronúcleos bucal (BMCyt) (Figura 2) é um dos métodos para determinar danos ao DNA (ZAMORA-PERES et al., 2013). Os fragmentos de cromossomas ou cromossomas inteiros que ficam para trás na anáfase, durante a divisão celular, podem originar os micronúcleos (HEDDLE et al., 1991) que, quando presentes, representam indícios de efeitos genotóxicos ou mutagênicos, especialmente componentes micronucleogênicos (ZAMORA-PERES et al., 2013). O BMCyt pode ser facilmente realizado nas células esfoliadas da mucosa oral humana e, portanto, constitui um excelente

biomarcador de genotoxicidade, que permite a avaliação da resposta de tecidos alvo a ação de carcinógenos, evitando, assim, a necessidade de cultura de células (HOLLAND et al., 2008).

Figura 2 - Representação esquemática dos tipos celulares no BMCyt



Fonte: adaptado de THOMAS et al. (2008).

## 2.2 Ensaio citoma de micronúcleos bucal (BMCyt)

A capacidade de regeneração dos tecidos e órgãos no corpo são fundamentais para o envelhecimento saudável. A regeneração é dependente do número e da taxa de divisão de células proliferadoras (basais), sua estabilidade genômica e sua propensão para a morte celular (SQUIER; KREMER, 2001). Estes eventos podem ser estudados em células da mucosa bucal, por tratar-se de um método minimamente invasivo e não causar estresse nos sujeitos do estudo. O BMCyt vem sendo amplamente utilizado em estudos de epidemiologia molecular para investigar o impacto de fatores do estilo de vida, nutrição, exposição a genotoxinas, danos ao genótipo do DNA e morte celular (SARTO et al., 1990).

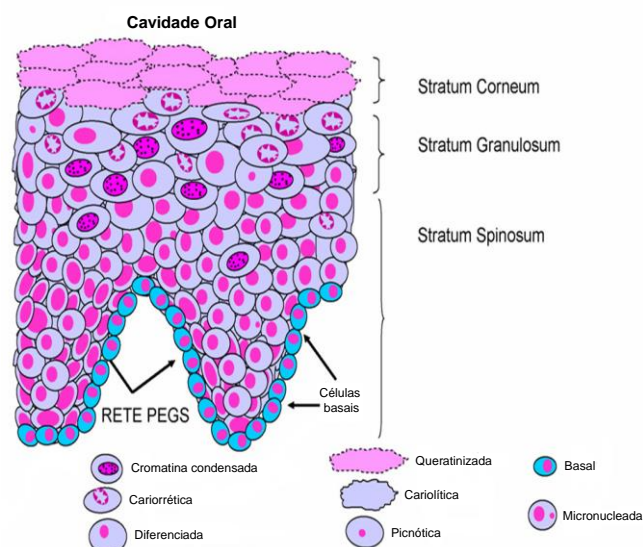
O uso de células da mucosa bucal possibilita o estudo da capacidade de regeneração dos tecidos epiteliais e danos ao DNA, mensurados através dos micronúcleos ou pelo uso de sondas fluorescentes para detectar aneuploidia, quebras cromossômicas e mudanças no comprimento dos telômeros (HOLLAND et al., 2008). A proporção de células basais e células mortas na mucosa bucal indicam a capacidade regenerativa dos tecidos (THOMAS et al., 2009).

A mucosa bucal proporciona uma barreira para potenciais carcinógenos que podem ser

metabolizados para gerar potenciais produtos reativos. Além disso, como até 90% dos cânceres parecem ter origem epitelial, a mucosa bucal pode ser usada para monitorar eventos genotóxicos. Fatores relacionados com o estilo de vida tais como: tabaco, mastigação de noz de areca, tratamentos médicos como a radioterapia, assim como a exposição ocupacional a químicos potencialmente mutagênicos e/ou carcinogênicos, têm utilizado com sucesso células bucais esfoliadas para mostrar efeitos genotóxicos (HOLLAND et al., 2008).

A mucosa bucal é um epitélio escamoso estratificado (Figura 3), consistindo de quatro camadas distintas: estrato germinativo, espinhoso, granuloso e córneo (THOMAS et al., 2009). O estrato córneo ou camada de células queratinizadas reveste a cavidade oral, compreendendo uma camada de células que estão constantemente sendo renovadas como um resultado do uso e desgaste da superfície tecidual. Abaixo desta camada, está o estrato granuloso ou camada de células granulares e o estrato espinhoso ou camada de células espinhosas, contendo populações de células diferenciadas, apoptóticas e necróticas. Abaixo desta camada encontra-se o estrato germinativo, contendo células basais e se dividindo ativamente, e células basais pediculadas, que produzem progenitura/descendentes que se diferenciam e mantêm o perfil, estrutura e integridade da mucosa bucal. O tempo necessário para migração celular da camada basal para a camada superficial queratinizada é em torno de 7 a 21 dias (SQUIER; KREMER, 2001).

Figura 3 - Epitélio da mucosa bucal

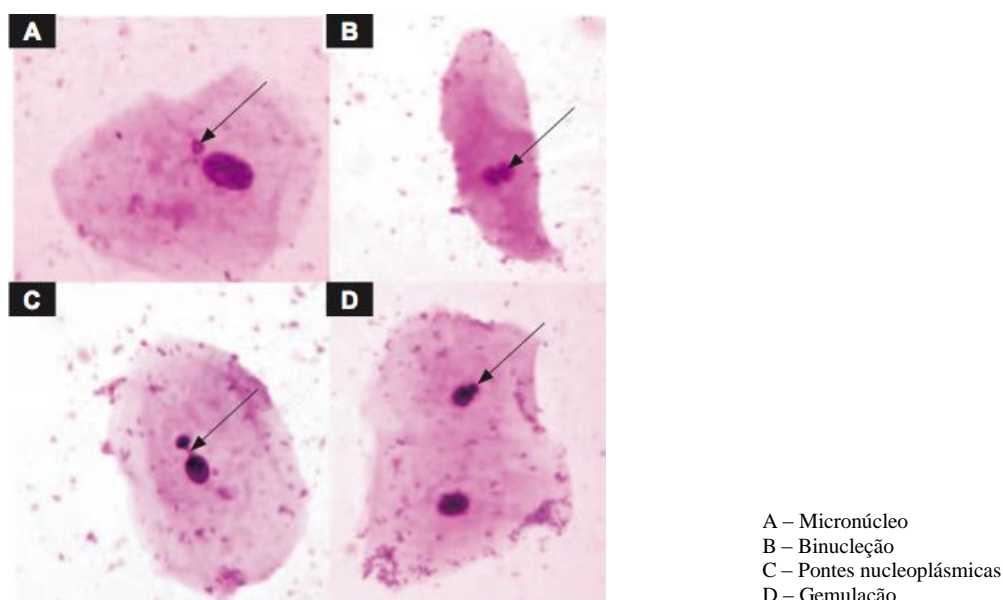


Fonte: adaptação de THOMAS et al. (2008).

Conforme Thomas et al. (2009), no BMCyt as células derivadas da mucosa bucal são

recolhidas de dentro da boca dos pacientes, usando uma escova de cabeça pequena (cytobrush). A seguir, as células são introduzidas em eppendorf contendo 1 ml de metanol, podendo ser armazenado durante dois dias em geladeira. Então, são feitas as lâminas e a coloração com Feulgen e Light Green para que as análises sejam realizadas microscopicamente. Este ensaio tem sido usado para mensurar biomarcadores de danos ao DNA (micronúcleos e ou brotos nucleares), defeitos de citocinese (células binucleadas) e potencial proliferativo (frequência de células basais) e/ou células mortas (cromatina condensada, cariorrexe, células picnóticas ou cariolíticas) (Figura 4).

Figura 4 - Alterações nucleares em células do epitélio oral



Fonte: ROSALES-RIMACHEL (2013)

É importante estabelecer valores de intervalo normais para os diferentes biomarcadores de citoma bucal de pacientes controle que não foram expostos a doses anormais de genotoxinas e citotoxinas. Isto permite ao investigador identificar variáveis chave afetando a frequência observada de biomarcadores, tais como: idade, gênero, status de vitamina B (particularmente vitamina B12 e folato), genótipo e status de fumo. Informações detalhadas da exposição à genotoxina, como o tipo de toxina e a duração da exposição, são necessárias para atingir uma interpretação significativa dos dados. Isto pode ser útil na identificação da dose limiar e do tempo de exposição requerido para uma genotoxina em particular produzir mudanças significativas nos biomarcadores do BMCyt (ALBERTINI et al., 2000).



### 2.3 Periodontite como possível biomarcador da estabilidade genômica

A periodontite, conforme descrito anteriormente, é uma doença infecciosa que resulta em inflamação das estruturas de suporte dos dentes, conduzindo a uma perda progressiva de inserção óssea, caracterizada pela formação de bolsa periodontal e recessão gengival. A periodontite leva à proliferação e migração epitelial e a liberação de citocinas inflamatórias, prostaglandinas, fatores de crescimento e enzimas, as quais estão intimamente associados com o desenvolvimento do câncer (TEZAL et al., 2007).

Dentre as evidências para esta associação está o trabalho de Velly et al. (1998), que ao examinarem a relação entre as variáveis de saúde bucal e o risco de cânceres de boca, faringe e laringe, concluíram que a má higiene oral e lesões causadas por dentaduras estão associadas ao câncer de boca. Abnet et al. (2001), em seu estudo prospectivo, avaliaram a associação entre perda dentária e o risco de desenvolver carcinoma de esôfago de células escamosas, adenocarcinoma da cárdia gástrica ou adenocarcinoma gástrico não-cárdia em uma coorte com 28.868 pessoas, seguidos prospectivamente durante 5,25 anos. Nesta coorte, a perda de dentes aumentou o risco de desenvolver câncer gastrointestinal superior e postula-se que isto pode estar relacionado à alterações na flora bacteriana oral e aumentos subsequentes de produção *in vivo* de substâncias cancerígenas, como nitrosaminas.

Hujoel et al. (2003) estudaram a associação entre periodontite e vários tipos de cânceres, sendo que o de pulmão demonstrou a associação mais forte. Stolzenberg-Solomon et al. (2003) concluíram, através de seu estudo prospectivo, que a perda dentária foi associada com o câncer de pâncreas. Tezal et al. (2007) demonstraram uma associação direta entre periodontite crônica e o câncer na língua, sendo que após ajuste para os efeitos da idade no momento do diagnóstico, tabagismo e número de dentes, cada milímetro de perda óssea alveolar foi associado com um aumento de 5,23 vezes no risco de câncer na língua. Outro estudo realizado por Tezal et al. (2005) sugeriu uma associação entre a doença periodontal e o risco de lesões pré-cancerosas e de tumores, gerando a hipótese sobre uma possível relação entre a doença periodontal e neoplasias orais.

Michaud et al. (2007), em seu estudo de coorte realizado em 1986, descobriram que os homens com história de doença periodontal tiveram um risco aumentado em 64% de ter câncer pancreático. Além disso, o aumento da gravidade da periodontite, estabelecida pela perda de dentes recente, configurou um risco ainda maior de desenvolver este tipo de câncer. Tezal et al. (2009) realizaram um estudo para avaliar o efeito da periodontite crônica no carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (CECP) e puderam verificar que cada milímetro

de perda de osso alveolar foi associado com mais do que quatro vezes o aumento do risco de carcinoma. A força desta associação mostrou ser maior na cavidade oral (seguida pela orofaringe e laringe) e persistiu em pacientes que nunca usaram tabaco e álcool. Isto sugeriu que a periodontite crônica é um fator de risco independente para CECP.

Um estudo realizado por Grant e Boucher (2011) mostrou que o baixo status da vitamina D contribui para a ligação entre doença periodontal e câncer de mama. E, finalmente, Shamami, Shamami e Amini (2011) apontaram um possível papel para a perda dentária e doença periodontal na carcinogênese. Nesta revisão sistemática nove em cada dez estudos de caso-controle relataram um aumento significativo no risco de câncer oral em pacientes com periodontite, mesmo após o ajuste para tabagismo e etilismo.

#### **2.4 Inter-relação com estilo de vida**

Para Davoglio et al. (2009) a atitude das pessoas acerca de sua saúde é moldada por suas vivências pessoais que são de fundamental importância na adoção de hábitos saudáveis e na determinação de comportamentos. Diante disto, tem se pesquisado como os fatores sociodemográficos, psicossociais e o estilo de vida podem influenciar nestes hábitos e na saúde das pessoas em todas as etapas da vida. Quando se pensa em doenças bucais, os fatores socioeconômicos (idade, sexo, estado civil, etnia, escolaridade e outros) podem atuar como elementos diferenciadores na percepção das necessidades de tratamento, bem como no acesso aos serviços odontológicos (MATOS et al., 2001; BOING et al., 2005; FERREIRA et al., 2013). As relações sociais também afetam a saúde bucal (AVLUND et al., 2003), uma vez que a convivência entre as pessoas favorece o autocuidado e, ainda estimula o indivíduo a apresentar comportamentos de monitoramento e incentivo a muitas atividades que levam para uma melhora na qualidade de vida, como uma alimentação mais saudável, prática de atividades físicas e cuidados com a saúde (ANDRADE; VAITSMAN, 2002; BORGES; JAPUR, 2005). Além disso, outros hábitos relacionados ao estilo de vida, tais como o consumo de tabaco, bebidas alcoólicas e drogas ilícitas, apresentam-se como fator de risco para doenças bucais, especialmente as periodontais e o câncer de boca (SHOU; CURRY; MCQUEEN 1990; WICKHOLM et al., 2003).

Diferenças relacionadas à adoção de comportamentos saudáveis têm sido observadas entre os sexos, identificando que as mulheres adotam mais comportamentos positivos relacionados à saúde do que os homens (DAVOGLIO et al., 2009). Elas são mais adeptas a hábitos adequados de saúde bucal e cuidados preventivos. Também possuem maior

preocupação com sua aparência física, muito influenciada pelos padrões sociais e culturais vigentes, contribuindo para que assumam maior cuidado em relação ao seu corpo, repercutindo também nos hábitos e comportamentos de saúde bucal (BÖNECKER et al., 2004).

Avlund et al. (2003) por sua vez, observaram que vítimas de discriminação em geral apresentam baixa auto-estima o que também pode influenciar negativamente os seus hábitos de saúde. Estes autores concluíram que pessoas que vivem sozinhas, ou que não estão satisfeitas com a frequência de seus contatos sociais, adotam menos comportamentos preventivos de saúde, nos quais se incluem os cuidados com a saúde bucal.

A condição socioeconômica é outro fator diretamente relacionado aos cuidados com a saúde bucal. O estudo de Sanders, Spencer e Slade (2006) demonstrou que indivíduos pertencentes a categorias socioeconômicas mais elevadas têm uma melhor higiene bucal e também visitam com maior frequência os serviços de saúde, do que os de inserção socioeconômica mais baixa. Portanto, este conhecimento parece ser fundamental quando se pensa em prevenção da doença periodontal.

O estudo de hábitos e comportamentos de saúde não deve ficar restrito aos fatores de risco para a ocorrência de doenças, devendo abordar também aspectos familiares. Nesse sentido, é conhecida a importância das relações familiares e também sociais para a saúde bucal, por sua influência nos hábitos e comportamentos (AVLUND et al., 2003). A identificação do indivíduo com outras pessoas, que podem ser os pais, colegas ou grupo social, contribuem para a adoção de atitudes positivas em relação à saúde. Desta forma, pode-se dizer que hábitos de saúde inadequados indicam, muitas vezes, que o indivíduo sente-se incompreendido por seus familiares e assume uma postura de desinteresse pela sua aparência e autocuidado, como forma de protesto (FREEMAN, 1999). Conforme Anttila et al. (2006), os sentimentos depressivos também podem interferir no autocuidado, com reflexos na saúde geral e bucal do indivíduo. O estudo destes autores verificou que o estresse psicossocial e outros fatores psicológicos que interferem no bem-estar, podem ter efeitos diretos ou indiretos na etiologia da periodontite. Portanto, o estresse pode influenciar o comportamento de uma pessoa em relação à nutrição e higiene oral, assim como a depressão pode reduzir a energia e a autodisciplina do indivíduo, resultando em deterioração da higiene e da condição periodontal.

Acredita-se, então, que o conhecimento da situação de saúde bucal de uma população e dos fatores que podem influenciá-la, é essencial para promover mudanças de comportamento que levem a atitudes positivas em relação aos cuidados com a mesma. Além disso, a garantia

de acesso e a qualificação contínua dos serviços de saúde bucal são imprescindíveis na busca de melhores condições de vida e saúde (DAVOGLIO et al., 2009).

Enfim, uma série de variáveis ambientais, comportamentais, sócio-demográficas e biológicas tem sido avaliadas como possíveis fatores de risco para as doenças periodontais (OPPERMANN, 2015). A prevalência, extensão e gravidade da periodontite claramente aumentam com a idade (HAAS et al., 2012) e homens adultos (30 anos ou mais) apresentam significativamente mais perda de inserção clínica do que as mulheres, destacando, então, que o sexo dos indivíduos também se apresenta como um possível fator de risco. Além disso, indivíduos com baixa renda e baixo nível educacional, assim como indivíduos não brancos tem maior probabilidade de terem periodontite (SUSIN et al., 2004).

O fumo parece ser o fator de risco mais importante e evitável em várias doenças. Seu efeito na saúde periodontal é dependente da relação dose-resposta e do tempo de exposição ao fumo durante a vida (SUSIN et al., 2004). Novaes et al. (1997), em seu estudo longitudinal, no qual compararam pacientes diabéticos e não-diabéticos, verificaram que os indivíduos que apresentavam a doença periodontal tiveram alta progressão da perda de inserção, indicando que o *diabetes mellitus* é, também, um fator de risco importante para as doenças periodontais e, que não deve ser negligenciado. Outro achado importante de uma recente meta-análise, foi de que indivíduos obesos têm maior probabilidade de terem doença periodontal destrutiva (CHAFFEE; WESTOM, 2010). Shimazaki et al. (2010) encontraram achados semelhantes através de um estudo transversal, no qual observaram que indivíduos obesos (conforme IMC e porcentagem de gordura) e com baixa capacidade de aptidão física (estabelecida pelo teste  $VO_2^{max}$ ) apresentaram risco significativamente maior de terem periodontite severa.

## **2.5 Interdisciplinaridade**

Atualmente, é quase um consenso que a interdisciplinaridade é imprescindível para o desenvolvimento da ciência, tecnologia e inovação (PHILIPPI JR; SILVA NETO, 2011). Então, ao se refletir sobre a importância da equipe interdisciplinar no tratamento de qualidade na saúde, deve-se ter como pressuposto que, mais do que ser pensado e teorizado, o espírito interdisciplinar deve ser vivenciado. Portanto, na busca de um atendimento mais efetivo e eficaz às demandas da sociedade, deve-se trabalhar em equipe, através de um grupo de pessoas que desenvolva um trabalho de forma integrada e com objetivo comum, com interdependência, lealdade, cooperação e coesão entre os membros do grupo, a fim de atingirem maior eficácia nas suas atividades (NOGUEIRA, 1998).

Vários indicadores de risco, incluindo fatores psicossociais (ANTTILA et al., 2006), síndrome metabólica (LOPEZ et al., 2012), osteoporose/osteopenia (PASSOS et al., 2013), artrite reumatóide (PINHO et al., 2009), uso de ciclosporina (WENTZ et al., 2012) e consumo de álcool (LAGES et al., 2012) têm sido investigados como possíveis fatores de risco para as doenças periodontais, o que indica a importância fundamental de uma abordagem interdisciplinar quando do diagnóstico destas doenças.

Para Philippi Junior e Silva Neto (2011) a interdisciplinaridade implica uma forma de avanço na produção de conhecimento, porque requer trocas teóricas e graus crescentes de intersubjetividade visando a atender a natureza múltipla de fenômenos como, por exemplo, as doenças periodontais. Atualmente, está muito clara a importância de múltiplos fatores na etiopatogenia da doença periodontal e, prova disto, são todas as associações feitas nos estudos citados até então e através do quais se pretende alcançar uma visão mais ampla do processo saúde/doença periodontal. Sendo assim, pode-se dizer que o presente estudo cumpre os quesitos de interdisciplinaridade ao convergir duas ou mais áreas do conhecimento que contribuam para o avanço da ciência, no momento em que no transcorrer da pesquisa, os questionários e a coleta das células do epitélio bucal serão realizados por uma cirurgiã-dentista, enquanto que o processamento e análise das lâminas (para o ensaio citoma de micronúcleos) serão realizados por bolsistas acadêmicos do curso de nutrição e biologia.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar se existem diferenças na frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares em células da mucosa bucal de pacientes saudáveis e de portadores de doença periodontal moderada ou severa e associar esta variável às características do estilo de vida, ao IMC e ao nível socioeconômico.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Classificar os indivíduos do estudo, quanto à presença ou não de doença periodontal;
- Classificar os indivíduos do estudo, quanto à severidade da doença periodontal (moderada ou severa);
- Determinar a frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares em células da mucosa bucal de pacientes saudáveis e de portadores de doença periodontal, conforme a sua severidade;
- Descrever os hábitos dos sujeitos com relação ao tabagismo e ingestão de álcool e sua associação com a frequência de micronúcleos e outras anormalidades nucleares nos sujeitos da amostra;
- Descrever a relação entre a diferença na frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares nos sujeitos da amostra e sua história médica, especialmente quanto à presença de *diabete mellitus*;
- Associar a frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares e a presença de sobrepeso e obesidade, conforme cálculo do índice da massa corporal (IMC), nos sujeitos da amostra;
- Classificar o nível socioeconômico dos indivíduos;
- Associar o nível socioeconômico dos indivíduos com a frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares encontrados nos sujeitos da amostra;

## **4 MÉTODO**

### **4.1 Amostra/população/sujeitos**

O estudo será realizado com pacientes voluntários da Clínica do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), na cidade de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. Para o cálculo amostral, com base em estudos prévios, considerou-se que um mínimo de 20 pacientes em cada grupo seria suficiente para avaliar diferenças com intervalo de confiança de 95%. Então, para compensar a possibilidade de ocorrerem algumas desistências, serão selecionados 25 voluntários para cada grupo. Dessa forma, o cálculo da amostra mínima resultou em 75 indivíduos que serão distribuídos da seguinte forma:

- 25 indivíduos com saúde periodontal (grupo controle);
- 25 com doença periodontal crônica moderada;
- 25 com doença periodontal crônica grave;

A amostra será caracterizada, portanto, quanto à presença ou ausência de doença periodontal. Quando presente, será feita uma classificação com relação à severidade da doença.

Farão parte do estudo indivíduos com idade entre 40 e 70 anos, de ambos os sexos. Dentre estes participantes serão excluídos: gestantes, indivíduos que tenham perdido ou ganhado  $\geq 5$  kg nos últimos 6 meses, com antecedentes de câncer, quimioterapia ou radioterapia.

### **4.2 Delineamento metodológico**

A presente pesquisa consistirá em um estudo do tipo transversal, de caráter descritivo e associativo. O estudo transversal é de prevalência e não de incidência ou risco de doença (FLETCHER; FLETCHER, 2006). Tem por objetivo analisar determinados fenômenos e esclarecer possíveis relações com outras variáveis. É realizado por meio de questionários e medições feitas em uma única ocasião ou durante um curto período de tempo. Após selecionada a amostra, examinam-se as variáveis, designando as preditoras e o desfecho com base na plausibilidade biológica e em informações de outras fontes (GAYA et al., 2008; HULLEY et al., 2015).

### **4.3 Hipóteses e variáveis**

O presente estudo levanta as seguintes hipóteses:

**H<sub>1</sub>**- A doença periodontal, conforme sua severidade, pode condicionar alterações nos níveis basais de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares;

**H<sub>2</sub>**- Os hábitos relacionados ao estilo de vida dos indivíduos, como o tabagismo e abuso de álcool, podem estar associados a uma maior frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares nos sujeitos da amostra;

**H<sub>3</sub>**- Indivíduos com artrite reumatóide, *diabete mellitus* ou doenças crônicas no fígado, tendem a apresentar uma maior frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares entre os sujeitos da amostra;

**H<sub>4</sub>**- A frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares pode ser maior em indivíduos com sobrepeso e obesidade, conforme cálculo do índice da massa corporal (IMC), dentre os sujeitos da amostra;

**H<sub>5</sub>**- Aqueles indivíduos com o nível socioeconômico mais baixo tendem a apresentar uma maior frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares entre a amostra;

As variáveis serão definidas da seguinte forma:

**Doença periodontal:** variável preditora (independente) e ordinal, ao ser classificada conforme sua severidade: 1) Saúde periodontal; 2) Periodontite moderada; 3) Periodontite severa.

**Aumento na frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares:** variável dependente (desfecho):

**Hábito de fumar:** variável interveniente;

**Ingestão de álcool:** variável interveniente;

**Fazer uso de algumas medicações** como: Carisoprodol (Algi-Tanderil; Beserol; Dorflex; Dorilax; Miocitalgan; Mionevrix; Tandrilax); Fenilbutasona (Mioflex); Tiocolchisídeo (Muscoril); Ciclobenzaprina (Miosan; Mirtax; Musculaire) ou Metrotexato: variável interveniente;

**Diabetes mellitus:** variável interveniente e variável quantitativa contínua;

**Sobrepeso/Obesidade:** variável interveniente e variável quantitativa contínua;

**Sexo:** obtida através de questionário auto referido pelo sujeito, sendo uma variável qualitativa nominal e dicotômica (masculino e feminino).

**Idade:** também obtida através de questionário auto referido pelo sujeito, sendo uma



variável quantitativa contínua, referida em anos completos de vida.

**Nível socioeconômico:** variável qualitativa nominal, obtida através de questões do critério ABEP, o qual avalia os itens de posse e grau de instrução do chefe da família, classificado em seis classes sociais: 1) A; 2) B1; 3) B2; 4) C1; 5) C2; 6) D-E. As classes serão agrupadas em três variáveis: 1) classe social elevada (classes A, B1 e B2); 2) classe social intermediária (classes C1 e C2); 3) classe social baixa (classes D-E).

#### **4.4 Procedimentos metodológicos**

O presente estudo contará com as seguintes etapas a serem realizadas em 2015/2016:

1ª etapa: elaboração do projeto;

2ª etapa: treinamento e calibração da examinadora;

3ª etapa: encaminhamento do projeto para aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa;

4ª etapa: seleção dos pacientes junto ao Curso de Odontologia da UNISC;

5ª etapa: encaminhamento e recolhimento dos termos de consentimento livre e esclarecido assinados;

6ª etapa: coleta dos dados e das células da mucosa oral na clínica do Curso de Odontologia da UNISC e transporte ao Laboratório de Nutrição Experimental, também da UNISC, para o Ensaio Citoma de Micronúcleos (BMCyt);

7ª etapa: digitação dos dados coletados;

8ª etapa: análise e discussão dos resultados;

9ª etapa: elaboração da dissertação;

10ª etapa: defesa da dissertação;

11ª etapa: divulgação dos resultados;

#### **4.5 Técnicas e instrumentos de coleta**

##### **4.5.1 Questionários**

As informações serão obtidas através de questionários autorreferidos e aplicados pelo pesquisador que estará devidamente treinado. As questões serão referentes à características demográficas; história médica pregressa de doenças sistêmicas confundidoras, tais como *diabete mellitus*; uso de medicações; hábitos (fumo e álcool); além de dados

socioeconômicos, classificados de acordo com o critério da Associação Brasileira das Empresas de Pesquisas (ABEP, 2015) que também serão questionados (ANEXO B e C). Os dados antropométricos para classificação do estado nutricional dos indivíduos será realizada segundo os critérios recomendados pela *World Health Organization* (WHO) (1990), de acordo com o IMC ( $\text{peso}/\text{altura}^2$ ). Então:  $\text{IMC} < 18,5 \text{ kg/m}^2$  (Baixo peso);  $\text{IMC} \geq 18,5$  e até  $24,9 \text{ kg/m}^2$  (Eutrófico);  $\text{IMC} \geq 25$  e até  $29,9 \text{ kg/m}^2$  (Sobrepeso) e  $\text{IMC} \geq 30,0 \text{ kg/m}^2$  (Obeso). O trabalho de campo será iniciado após aprovação do projeto pelo CEP.

#### 4.5.2 Exame clínico periodontal

Todos os pacientes serão submetidos a exame clínico periodontal feito por um único examinador treinado e calibrado, que realizará os exames de profundidade de sondagem, sangramento a sondagem e perda de inserção de todos os dentes presentes (exceto dos terceiros molares), em seis sítios por dente (disto-vestibular; medio-vestibular; mesio-vestibular; mesio-lingual; médio-lingual e disto-lingual), com sonda periodontal milimetrada de 1 a 10 mm (F.O.A 23 W - Neumar) (Figura 5).

Figura 5: Sondagem Periodontal



Fonte: HEPP, V. et al, 2007.

Profundidade de sondagem (PS) é definida como a distância da margem gengival livre até o fundo de sulco/bolsa. Quando da ocorrência de sangramento durante este exame, será utilizada nomenclatura Sangramento a Sondagem (SS). Recessão gengival será definida como sendo a distância da junção cimento-esmalte (JCE) até a margem gengival livre. E, Perda de Inserção Clínica (PIC) definida como a distância da junção cimento-esmalte (JCE), até o fundo da bolsa periodontal, calculada como a soma das medidas de PS e Retração Gengival (RG).

Será estabelecido que os pacientes saudáveis serão aqueles com ausência de sinais inflamatórios e com profundidade de sondagem de até 3 ou 4 mm. Sujeitos com doença periodontal moderada, serão aqueles com presença de sinais inflamatórios, ou seja, com sangramento a sondagem e também com perda de inserção periodontal  $\geq 5$ mm, em 15-50% dos dentes. Com periodontite severa, serão considerados os pacientes com perda de inserção periodontal  $\geq 5$ mm, em  $\geq 50\%$  dos dentes e também sinais inflamatórios.

#### **4.5.3 Coleta e preparação das células bucais para o ensaio citoma de micronúcleos (BM cyt)**

As amostras das células do epitélio bucal serão coletadas após o exame clínico periodontal quando, então, os sujeitos, farão um bochecho com água destilada para enxaguar a boca. O BM cyt será realizado conforme protocolo de Thomas et al. (2009), sendo que as células serão recolhidas na mucosa jugal do lado direito e esquerdo da boca dos pacientes, utilizando-se uma escova *cytobrush* de forma circular e em espiral (vinte vezes de cada lado) que, então, será introduzida em *ependorff* contendo 1mL de metanol. Estas amostras poderão ser armazenadas durante até dois dias em geladeira. Em seguida, serão retiradas as escovas *cytobrush* de cada *ependorff* e serão adicionados 20 $\mu$ L de DMSO. Cada *ependorff* será centrifugado a 3500 rpm por 3 minutos. Então, será retirado 200 $\mu$ L de sobrenadante com o auxílio de uma micropipeta e adicionado 200 $\mu$ L de metanol, quando as células serão dissociadas. Este procedimento será repetido 3 vezes para que, na sequência, sejam feitas as lâminas em duplicatas. Após secar em temperatura ambiente, as células serão coradas com *Feulgen* e *Light Green* e as análises realizadas por microscópio. As células irão ser classificadas como normais, micronúcleos, broto ou binucleadas com base na razão nuclear-citoplasmática e na morfologia nuclear.

#### **4.6 Processamento e análise de dados/estatística**

Após a coleta dos dados, os mesmo serão digitados em uma planilha do SPSS previamente planejada com as variáveis a serem estudadas. Depois de todos os dados serem digitados, os mesmo serão analisados no programa estatístico para ciências sociais (SPSS, Inc., Armonk, NY, USA, v. 20.0). Para verificar a prevalência de micronúcleos nos pacientes com saúde e doença periodontal, conforme sua severidade, será realizada uma análise descritiva. Estas variáveis serão, posteriormente, relacionadas com alguns aspectos que

envolvem o estilo de vida, tais como hábitos (fumo e álcool), sobrepeso/obesidade (de acordo com o IMC), *diabetes mellitus* e nível socioeconômico (pelo critério ABEP). A associação entre as variáveis será realizada através de diferentes modelos de regressão logística binária (para duas categorias) e multinomial (para três categorias).  $p < 0,05$  será considerado estatisticamente significativo.

#### **4.7 Considerações éticas**

O projeto será submetido a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC. E, como um requisito para participar do estudo e atendendo as normas de pesquisa com seres humanos, todos os sujeitos da amostra assinarão TCLE aprovado pelo CEP e seguindo a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, como forma de convite aos participantes (ANEXO A). Todos os sujeitos terão sua identidade sob sigilo, sendo identificados por códigos para que seja respeitada a privacidade de cada indivíduo. Saliencia-se que serão tomadas as medidas de biossegurança em todos os procedimentos a serem realizados durante a pesquisa, tornando mínimo os riscos aos participantes. Há apenas a possibilidade de ocorrer leve desconforto e/ou sangramento durante a sondagem, além de bacteremia transitória. Aos sujeitos da pesquisa será oferecida uma cópia do TCLE e após a coleta dos dados, estes serão guardados em local seguro pela pesquisadora, durante cinco anos, sendo que, depois deste período, serão incinerados. Além disso, cada indivíduo terá cópia dos seus dados coletados e analisados junto aos seus prontuários no Curso de Odontologia da UNISC, para que possam ser utilizados em futuros atendimentos que possam vir a ser realizados pelos alunos da universidade.

## 5 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

	2015 1º Semestre	2015 2º Semestre	2016 1º Semestre	2016 2º Semestre	2017 1º Semestre
Revisão da literatura	X				
Elaboração do projeto	X	X (Setembro)			
Defesa do projeto		X (Setembro)			
Encaminhamento ao Comitê de Ética		X (Setembro)			
Levantamento de dados			X		
Digitação/Análise/Discussão de dados				X	
Redação final da dissertação				X	
Preparo de comunicação				X	
Defesa da dissertação					X (março)

## **6 RECURSOS HUMANOS E INFRAESTRUTURA**

A infraestrutura para o desenvolvimento do presente estudo será disponibilizada pela Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. Para a realização dos questionários, exames periodontais e a coleta das células da mucosa bucal, que serão efetuados pelo pesquisador principal previamente treinado e calibrado, será necessário somente um equipo odontológico do Curso de Odontologia da UNISC. As sondas periodontais, jaleco, equipamento de proteção individual (EPI), além de roletes de algodão e sugadores de saliva serão proporcionados pela pesquisadora. O teste de danos ao DNA será realizado por estudantes, bolsistas de iniciação científica (bolsas da FAPERGS, CNPq e UNISC) do curso de Nutrição da UNISC, capacitados para a realização deste teste no laboratório de Nutrição Experimental, também da UNISC.

## 7 ORÇAMENTO/ RECURSOS MATERIAIS

<b>Itens a serem financiados</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Valor unitário</b>	<b>Valor total</b>	<b>Fonte viabilizadora</b>
Material de escritório (folhas, impressão, cartucho de impressora)	1000	R\$ 0,20	R\$100,00	Pesquisadora
Materiais para exame periodontal: - sonda periodontal; - rolete de algodão; - luvas descartáveis; - sugador de saliva; - EPI;	10 3 pacotes 1 caixa 1 pacote 2 unidades	R\$ 30,00 R\$ 2,00 R\$ 18,00 R\$ 4,00 R\$ 2,50	R\$ 300,00 R\$ 6,00 R\$18,00 R\$ 4,00 R\$ 5,00	Pesquisadora
Material para citoma de micronúcleos em mucosa oral (Cytobrush, metanol, etc.)	75	R\$ 30,60	R\$ 2.295,00	Pesquisadora
Valor total geral: R\$ 2.728,00				

## 8 RESULTADOS E IMPACTOS ESPERADOS

Espera-se, com o presente estudo, encontrar diferença entre os grupos de casos e de controle no que diz respeito a células basais com micronúcleos e outras anormalidades nucleares. Além disso, deseja-se conseguir relacionar estas diferenças na frequência de micronúcleos com alguns aspectos relacionados ao estilo de vida, tais como tabagismo, ingestão de álcool, doenças confundidoras (*diabetes mellitus*, artrite reumatoide, doenças crônicas do fígado) e com sobrepeso/obesidade e com o perfil socioeconômico.

É válido destacar que uma maior frequência de micronúcleos, encontrada nas células de indivíduos com doença periodontal crônica moderada ou severa, poderá ser utilizado como biomarcador de estabilidade genômica, despertando, então, o interesse para futuras investigações relacionadas à carcinogênese.

Enfim, esta pesquisa pode fornecer subsídios para o planejamento de ações e estratégias para se prevenir/minimizar a ocorrência dos danos genômicos e, conseqüentemente, para melhorar a qualidade de vida da população. Ademais, salienta-se a importância da identificação de alterações bucais e sua correlação com doenças sistêmicas. Por conseguinte, todos os indivíduos identificados com doença periodontal, serão encaminhados para tratamento na Clínica de Periodontia do Curso de Odontologia da UNISC, para que recebam uma terapia adequada e sigam todas as orientações, a fim de minimizar ou até mesmo abolir suas patologias. Além disso, os resultados dos dados analisados serão disponibilizados junto ao prontuário que cada sujeito da amostra possui na Clínica do Curso de Odontologia da UNISC, para que possam ser utilizados em futuros atendimentos realizados pelos alunos do curso de Odontologia.



## **9 RISCO/ DIFICULDADES/LIMITAÇÕES**

Como a participação dos indivíduos ocorrerá de forma voluntária, uma possível limitação do presente estudo relaciona-se ao número de perdas por adesão e desistências durante a realização do trabalho, não sendo possível atingir o número da amostra almejado. Além disto, este trabalho tem o risco de as hipóteses não serem confirmadas e também de o material coletado das células esfoliadas da mucosa bucal ser insuficiente, impossibilitando o ensaio citoma de micronúcleos.

Aos sujeitos da pesquisa, os riscos para a saúde são mínimos, havendo a possibilidade de ocorrer um leve desconforto e/ou sangramento momentâneo durante a sondagem, além de bacteremia transitória. A realização do questionário, assim como a coleta dos dados transcorrerá em aproximadamente uma hora e não irá alterar as atividades diárias dos sujeitos da amostra.

## REFERÊNCIAS

- AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*. v. 4, n. 1, p. 8-38, 1999. WebQualis A1.
- ABEP 2015. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Disponível em <www.abep.org> Acesso em: 28 de julho de 2015.
- ABNET, C. C. et al. Prospective study of tooth loss and incident esophageal and gastric cancers in China. *Cancer Causes & Control*, v. 12, n. 9, p. 847-854, 2001. Fator impacto: 2.96.
- AKALIN, F. A. et al. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Journal Clinical of Periodontology*, v. 34, n. 7, p. 558-565, 2007. WebQualis A1.
- ALBANDAR, J. M.; RAMS, T. E. Global epidemiology of periodontal diseases: An overview. *Periodontology 2000*, v. 29, n. 1, p. 7-10, 2002. Fator impacto: 3.0.
- ALBANDAR, JASIM M. Periodontal diseases in North America. *Periodontology 2000*, v. 29, n. 1, p. 31-69, 2002. Fator impacto: 3.0
- ALBERTINI, R. J. et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research.*, v. 463, n. 2, p. 111-172, 2000. Fator impacto: 1.17.
- ALMEIDA, S. et al. Periodontite e doença renal crônica. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto*, v. 12, n.1, p. 66-75, 2013. WebQualis B5.
- ANDRADE, G. R. B.; VAITSMAN, J. Apoio social e redes: conectando solidariedade e saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*. v. 7, n. 4, p. 925-34, 2002. WebQualis A1.
- ANTTILA, S. et al. Symptoms of depression and anxiety in relation to dental health behavior and self-perceived dental treatment need. *European of Journal Oral Science*, v. 114, n. 2, p. 109-114, 2006. WebQualis B2.
- ARMITAGE, GARY C. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v. 34, n. 1, p. 9-21, 2004. Fator impacto: 3.0.
- AVLUND, K. et al. Social relations as determinants of oral health among persons over the age of 80 years. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, v. 31, n. 6, p. 454-462, 2003. Fator impacto: 1.94.
- BOING, A. F. et al. Estratificação sócio-econômica em estudos epidemiológicos de cárie dentária e doenças periodontais: características da produção na década de 90. *Caderno de Saúde Pública*, v. 21, n. 3, p. 673-8, 2005. WebQualis B1.
- BÖNECKER, M. et al. *Promovendo a saúde bucal na infância e adolescência: conhecimentos e práticas*. Porto Alegre: Santos, 2004.

BORGES, C. C.; JAPUR, M. Promover e recuperar saúde: sentidos produzidos em grupos comunitários no contexto do Programa de Saúde da Família. *Interface – Comunicação, Saúde, Educação*, v. 9, n. 18, p. 507-519, 2005. WebQualis B1.

BRANDÃO, P.T.J. et al. Can periodontal infection induce genotoxic effects? *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 73, n. 3, p. 219-225, 2015. WebQualis B2.

CANAKÇI, C. F. et al. New Evidence os Premature Oxidative DNA Damage: Mitochondrial DNA Deletion in Gingival Tissue of Patients with Periodontitis. *Journal of Periodontology.*, v. 77, n.11, p. 1894-1900, 2006. Fator impacto: 0.6.

CHAFFEE, B. W.; WESTON, S. J. Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology*; v. 81, n. 12, p. 1708-1724, 2010. Fator impacto: 0.6.

CHAPPLE, I. L.; MATTHEWS, J. B. The role of reative oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destrtuction. *Periodontology 2000*, v. 43, n.1, p.160-232, 2007. Fator impacto: 3.0.

COLOTTA, F. et al. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of câncer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*, v. 30, n. 7, p. 1073-1081, 2009. WebQualis A1.

CORBI, S. C. T. et al. Elevated micronucleus frequency in patients with type 2 diabetes, dyslipidemia and periodontitis. *Mutagenesis*, v. 29, n. 6, p. 433-439, 2014. Fator impacto: 0.90.

D'AGOSTINI, F. et al. Cytogenetic analysis of gingival epithelial cells, as related to smoking habits and occurrence of periodontal diseases. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 216, n. 1, p. 71-75, 2013. WebQualis A2.

DANDONA, P. et al. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet*, v. 347, n. 8999, p. 444-445, 1996. Fator impacto: 39.20.

DAVOGLIO, R. S. et al. Fatores associados a hábitos de saúde bucal e utilização de serviços odontológicos entre adolescentes. *Caderno de Saúde Pública*, v. 25, n.3, p. 655-667, 2009. WebQualis B1.

DIAS, L. Z. S.; PIOL, S. A. C.; ALMEIDA, C. S. L. Atual Classificação das Doenças Periodontais. *UFES Revista de Odontologia*, Vitória, v.8, n.2, p.59-65, maio/ago. 2006. WebQualis B3.

EYFJORD, J. E.; BODVARSDOTTIR, S. K. Genomic instability and cancer: networks involved in response to DNA damage. *Mutatation Research*, v. 592, n. 1-2, p. 18-28, 2005. Fator impacto: 1.17.

FENECH, M. et al. Molecular mechanism of micronucleus , nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, v. 26, n. 1, p. 125-132, 2011. Fator impacto: 0.90.

FERREIRA, L. et al. Coesão familiar associada à saúde bucal, fatores socioeconômicos e comportamentos em saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 18, n. 8, p. 2461-2473, 2013. WebQualis A2.

FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W. *Epidemiologia clínica: elementos essenciais*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FREEMAN, RUTH. The determinants of dental health attitudes and behaviours. *British Dental Journal*; v. 187, n. 1, p. 15-18, 1999. WebQualis B2.

GAYA, A. et al. *Ciências do movimento humano: introdução à metodologia da pesquisa*. Porto Alegre: Artmed, 2008.

GONDIVKAR, S. et al. Chronic periodontitis and the risk of head and neck squamous cell carcinoma: facts and figures. *Experimental Oncology*, v.35, n. 3, p. 163-167, 2013. Fator impacto: 1.23.

GRANT, W. B.; BOUCHER, B. J. Low vitamin D status likely contributes to the link between periodontal disease and breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, v. 128, n. 3, p. 907-908, 2011. Fator impacto: 4,19.

HALLIWELL, BARRY. Oral inflammation and reactive species: a missed opportunity? *Oral Diseases*, v. 6, n. 3, p. 136-137, 2000. Fator impacto: 2.40.

HAAS, A. et al. Pattern and rate of progression of periodontal attachment loss in an urban population of South Brazil: a 5-years population-based prospective study. *Journal of Clinical Periodontology*. v. 39, n. 1, p. 1-9, 2012. WebQualis A1.

HEDDLE, J. A. et al. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 18, n. 4, p. 227-291, 1991. Fator impacto: 2,55.

HEPP, V. et al. Periodontite Agressiva: relato de casos e revisão da literatura. *Revista Clínica e Pesquisa Odontologia - UNITAU*, v. 3, n. 1, p. 23-31, 2007. WebQualis B5.

HOLLAND, N. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*., v. 659, n. 1-2, p. 93-108, 2008. Fator impacto: 1.17.

HUJOEL, P. P., et al. An exploration of the periodontitis-cancer association. *Annals of Epidemiology*, v. 13, n. 5, p. 312-316, 2003. Fator impacto: 2.89.

HULLEY, S. B. et al. *Delineando a pesquisa clínica*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

KOSTIC, A. D.; GEVERS, D.; PEDAMALLU, C. S. Genomic analysis identifies association os *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Research*, v. 22, n. 2, p. 292-298, 2012. WebQualis B1.

- LAGES, E. J. et al. Risk variables in the association between frequency of alcohol consumption and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 39, n. 2, p. 115-22, 2012. WebQualis A1.
- LOPEZ, N. J. et al. Effects of periodontal therapy on systemic markers of inflammation in patients with metabolic syndrome: a controlled clinical trial. *Journal of Periodontology* v. 83, n. 3, p. 267-278, 2012. WebQualis A1.
- LOURO, P. M. et al. Doença periodontal na gravidez e baixo peso ao nascer. *Journal of Pediatrics*, v. 77, n.1, p. 23-28, 2001. Fator de impacto: 0,9.
- MATOS, D. L. et al. Projeto Bambuí: estudo de base populacional dos fatores associados com o uso regular de serviços odontológicos em adultos. *Caderno de Saúde Pública*. v. 17, n. 3, p. 661-8, 2001. WebQualis B1.
- MATSUMOTO, M. A. et al. Cytogenetical damage in exfoliated oral mucosa cells in elderly people suffering denture stomatitis. *Gerodontology*, v. 27, n. 3, p. 183-188, 2010. Fator impacto: 0.80.
- MICHAUD, D.S. et al. A prospective study of periodontal disease and pancreatic cancer in US male health professionals. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 99, n. 2, p. 171-175, 2007. Fator de impacto: 15,16.
- MORRIS, A.J.; STEELE, J. WHITE, D. A. The oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. *British Dental Journal*, v. 191, n. 4, p. 186-192, 2001. WebQualis B2.
- MORRISON, WALLACE B. Inflammation and Cancer: A Comparative View. *Journal of Veterinary Internal Medicine*., v. 26, n. 1, p. 18-31, 2012. Fator impacto: 2.22.
- NOGUEIRA, VERA MARIA RIBEIRO. A importância da equipe interdisciplinar no tratamento de qualidade na área da saúde. *Katálysis*, v. 0, n.3, p. 40-48, março, 1998. WebQuais A2.
- NOVAES, A. B. Jr. et al. Manifestations of insulin-dependent diabetes mellitus in the periodontium of Young Brazilian patients. A 10-years follow-up study. *Journal of Periodontology*, v. 68, n. 4, p. 328-334, 1997. WebQualis A1.
- OPPERMANN, R. V. et al. Epidemiology of periodontal diseases in adults from Latin America. *Periodontology 2000*, v. 67, n. 1, p. 13-33, 2015. Fator impacto: 3.0.
- OPERMANN, R.V. et al. Epidemiologia das Doenças Periodontais. *Revista Periodontia*, v. 15, n. 4, p. 62-76, 2005. WebQualisB4.
- PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, v. 14, n. 1, p. 9-11, 1997. Fator impacto: 3.0.
- PARASKEVAS, S. HUIZINGA, J. D.; LOOS, B. G. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, v.35, n.4, p.277-290, 2008. WebQualis A1.

PASSOS, J. S. et al. Osteoporosis/osteopenia as an independent factor associated with periodontitis in postmenopausal women: a case-control study. *Osteoporosis International*, v. 24, n. 4, p. 1275-83, 2013. WebQualis A1.

PHILIPPI JR, A. ; SILVA NETO, A. J. *Interdisciplinariedade em Ciência, Tecnologia & Inovação*. São Paulo: Manole, 2011.

PIHLSTROM, B. L.; MICHALOWICZ, B. S.; JOHNSON, N. W. Periodontal diseases. *Lancet*, v. 366, n. 9499, p. 1809-1820, 2005. Fator impacto: 39.2.

PINHO, M. N. Et al. Relationship between periodontitis and rheumatoid arthritis and effect of non-surgical periodontal treatment. *Brazilian Dental Journal*, v. 20, n. 5, p. 355-364, 2009. WebQualis B1.

ROSALES-RIMACHEL, J. A. et al. Daño genotóxico en trabajadores de minería artesanal expuestos al mercurio. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, v. 30, n.4, p. 595-600, 2013. WebQualis B2.

RUBIRA, I. R. F. et al. Pesquisa de bactérias bucais em amostras de placa subgingival de indivíduos com o periodonto normal e de portadores de periodontite através da técnica do “SLOT IMMUNOBLOT”. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, v. 10, n. 3, p. 181-187, 1996. WebQualis B2.

SAINTOT, M. et al. Tumor progression and oxidant – antioxidant status. *Carcinogenesis*, v. 17, n. 6, p. 1267-1271, 1996. WebQualis A1.

SANDERS, A. E.; SPENCER, A. J.; SLADE, G. D. Evaluating the role of dental behaviour in oral health inequalities. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, v. 34, n. 1, p. 71-79, 2006. Fator impacto: 1.94.

SARTO, F. et al. The micronucleus assay in human exfoliated cells of the nose and mouth: application to occupational exposures to chromic acid and ethylene oxide. *Mutation Research*, v. 244, n. 4, p. 345-351, 1990. Fator impacto: 1.17.

SCULLEY, D. V.; LANGLEY-EVANS, S. C. Salivary antioxidants and periodontal diseases status. *Proceedings of the Nutrition Society*, n. 61, p. 137-143, 2002. WebQualis A2.

SEZER, U.; CIÇEK, Y.; CANAKÇI, C. F. Increase salivary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine may be a marker for disease activity for periodontitis. *Disease Markers*, v. 32, n. 3, p. 165-172, 2012. Fator impacto: 2.17.

SHAMAMI, M. S.; SHAMAMI, M. S.; AMINI, S. Periodontal disease and tooth loss as risks for cancer: A systematic review of the literature. *Iranian Journal of Cancer Prevention*, v. 4, n. 4, p. 189-198, 2011. Qualis Q4.

SHIMAZAKI, Y. et al. Relationship between obesity and physical fitness and periodontitis. *Journal of Periodontology*, v. 81, n. 8, p. 1124-31, 2010. Fator impacto: 0.6.

SHOU, L.; CURRY, C.; MCQUEEN, D. Using a “life-style” perspective to understand toothbrushing behaviour in Scottish schoolchildren. *Community Dentistry and Oral*

*Epidemiology*, v. 18, n. 5, p. 230-234, 1990. Fator impacto: 1.94.

SLOAND, E. M. et al. Graft-versus-Host Diseases: role of inflammation in the development of chromosomal abnormalities of keratinocytes. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, v. 16, n. 12, p. 1665-1673, 2010. Fator impacto: 3.34.

SQUIER, C. A.; KREMER, M. J. Biology of oral mucosa and esophagus. *Journal of the National Cancer Institute*, v.2001, n. 29, p. 7-15, 2001. WebQualis B1.

STOLZENBERG-SOLOMON, R. Z. et al. Tooth loss, pancreatic cancer and *Helicobacter pylori*. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 78, n. 1, p. 176-181, 2003. Fator impacto: 6.9.

SUSIN, C. et al. Periodontal Attachment Loss in an Urban Population of Brazilian Adults: Effect of Demographic, Behavioral, and Environmental Risk Indicators. *Journal of Periodontology*, v. 75, n. 7, p. 1033-1041, July, 2004. Fator impacto: 0,6.

TEZAL, M.; GROSSI, S. G. GENCO, R. J. Is periodontitis associated with oral neoplasms. *Journal of Periodontology*, v. 76, n. 3, p. 306-310, 2005. WebQualis A1.

TEZAL, M. et al. Chronic periodontitis and the risk of tongue câncer. *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*, v. 133, n. 5, p. 450-454, 2007. Fator impacto: 1.74.

TEZAL, M. et al. Chronic periodontitis and the incidence of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, v. 18, n. 9, p. 2406-2412, 2009. Fator impacto: 4.3.

THOMAS, P. et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, v. 4, n. 96, p. 825-837, 2009. WebQualis A1.

THOMAS, P. et al. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutation Research*, v. 638, n. 1-2, p. 37-47, 2008. Fator impacto: 1.17.

VELLY, A. M. et al. Relationship between dental factors and risk off upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncology*, v. 34, n. 4, p. 284-291, 1998. Fator impacto: 3.41.

WENTZ, L. A. et al. Low prevalence of gingival overgrowth associated to new imunossuppressive protocols with cyclosporin. *Brazilian Oral Research*, v. 26, n. 1, p. 64-70, 2012. WebQualis B1.

WICKHOLM, S. et al. Cigarette smoking, snuff use and alcohol drinking: coexisting risk behaviours for oral health in young males. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, v. 31, n. 4, p. 269-274, 2003. Fator impacto: 1.94.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases*. Geneva: World Health Organization; 1990. (WHO Technical Report Series 797).

YLÖSTALO, P.V., et al. Optimism and life satisfaction as determinants for dental and general health behavior oral health habits linked to cardiovascular risk factors. *Journal of Dental Research*, v. 82, n. 3, p.194-199, 2003. Fator de impacto: 4.14.

ZAMORA-PERES, A. L. et al. Increased number of micronuclei and nuclear anomalies in buccal mucosa cells from people exposed to alcohol-containing mouthwash. *Drug and Chemical Toxicology*, v. 36, n. 2, p. 255-260, 2013. Fator de impacto: 1,09.

ZAMORA-PERES, A.L. et al.; Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases; *Journal of Periodontal Research*, v. 50, n.1, p. 28-36; 2015. Fator de impacto: 2.21.



**CAPÍTULO II**  
**RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO**

## RELATO DE CAMPO

Este texto tem por objetivo relatar as experiências vivenciadas no trabalho de campo realizado pela aluna Tatiana Thier de Borba, junto ao Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), no município de Santa Cruz do Sul, RS, BR, no decorrer do curso de Pós- Graduação, Mestrado em Promoção da Saúde, desta mesma universidade, no ano de 2016.

Este momento foi um pouco árduo, dada pequenas dificuldades que foram sendo encontradas na caminhada da pesquisa. Mas, mesmo com todos os percalços, a atividade proporcionou-me muita reflexão, questionamentos e aprendizado.

Inicialmente, após a realização do projeto de pesquisa, foi necessário consentimento da coordenadora do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), bem como da chefe do Departamento de Enfermagem e Odontologia para que as amostras fossem coletadas em pacientes voluntários do curso. Assim, somente após aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com Seres Humanos, desta mesma Universidade, é que as coletas passaram a ser realizadas.

A partir de então é que foram surgindo dificuldades. A maior delas foi que, apesar da aprovação da coordenadora do curso de odontologia, os professores da disciplina de Periodontia não permitiram que a coleta fosse realizada nas aulas práticas da disciplina de Periodontia. Isto dificultou um pouco para que eu atingisse, em um curto período de tempo, a amostra planejada, tendo em vista que a maior parte dela foi composta por pacientes com doença periodontal. Entretanto, com a colaboração dos demais professores do curso e dos próprios pacientes que, na maioria das vezes, prontamente se voluntariaram para participar da pesquisa, foi atingida a meta de 77 indivíduos.

O exame periodontal, bem como a coleta das células da mucosa oral para realização do ensaio citoma de micronúcleos foram feitos em todos os pacientes por mim (pesquisadora responsável) que estava devidamente treinada e calibrada. Da mesma forma, os questionários foram aplicados por mim e, apesar de ter sido abordada linguagem coloquial, as perguntas envolviam também questões relacionadas aos hábitos destes indivíduos como uso de álcool, fumo e questões relacionadas à moradia destas pessoas. Diante disto, em alguns casos, talvez, por vergonha, nem todos tenham respondido de forma totalmente verdadeira a alguns questionamentos.

Por fim, a confecção das lâminas, coloração e a contagem dos micronúcleos foram realizadas no Laboratório de Nutrição Experimental, com o apoio de bolsistas do laboratório,

sendo que para utilização deste local, obtive autorização da professora responsável, antes mesmo de enviar o projeto ao CEP.

**CAPÍTULO III**  
**ARTIGO I**

**Associação entre periodontite e fatores sócio demográficos, índice de massa corporal e características do estilo de vida**

*Association between periodontitis and sociodemographic factors, body mass index and lifestyle features*

Categoria: artigo original

Tatiana Thier de Borba<sup>1,2</sup>, Patrícia Molz<sup>1,3</sup>, Caroline dos Santos<sup>1</sup>, Diene da Silva Schlickmann<sup>1</sup>, Leo Kraether Neto<sup>1</sup>, Daniel Prá<sup>1</sup>, Silvia Isabel Rech Franke<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

<sup>2</sup> Bolsista Capes (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)

<sup>3</sup> Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, RS Brasil

Autor correspondente: Dra. Silvia Isabel Rech Franke. Programa de Pós-graduação em Promoção da Saúde. Av. Independência, 2293, Sala 4206. Bairro Universitário, Santa Cruz do Sul-RS, CEP: 96815-900. RS, Brasil. Fone: +55-51-37177603; fax: +55-51-37171855. E-mail: [silviafr@unisc.br](mailto:silviafr@unisc.br)

**Artigo publicado pela Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, v. 6, n. 4, 2016 -  
QUALIS CAPES B3 – FATOR DE IMPACTO: 1,4038**

## Associação entre periodontite e fatores sociodemográficos, índice de massa corporal e características do estilo de vida

*Association between periodontitis and sociodemographic factors, body mass index and lifestyle features*

### RESUMO

**Justificativa e Objetivos:** as doenças periodontais são bastante prevalentes na população, tornando-se fundamental a necessidade de se identificar os aspectos epidemiológicos relacionados a essas patologias. Assim, objetivou-se avaliar se características do estilo de vida, fatores sociodemográficos e o estado nutricional estariam correlacionados à presença ou não de periodontite, bem como com a sua severidade. **Método:** trata-se de um estudo transversal com 77 indivíduos (40-70 anos de idade), de ambos os gêneros, voluntários da clínica do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul. Realizou-se um questionário com a história médica, hábitos de fumo e álcool, dados socioeconômicos e antropométricos. Clinicamente, executaram-se os exames de profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e perda de inserção clínica de todos os dentes presentes na boca dos sujeitos da amostra que foram divididos em três grupos: saúde periodontal, periodontite moderada e periodontite severa. **Resultados:** a idade média dos indivíduos foi 52,32±6,86 anos, sendo a maioria do sexo feminino. O predomínio da doença periodontal severa foi na faixa etária entre 50-59 anos, assim como entre aqueles sujeitos com sobrepeso e obesidade. O consumo de fumo e álcool foi pequeno (18% e 11% respectivamente). Verificou-se uma associação significativa entre a periodontite e o nível socioeconômico, sendo que nas classes A-B1, a maioria dos indivíduos estava com saúde (61%), enquanto que nas classes C2-D-E, a maioria estava com periodontite severa (47%). **Conclusão:** a população menos favorecida financeiramente teve maior comprometimento periodontal e, mesmo havendo associação com a periodontite, as demais variáveis não apresentaram diferença significativa.

**DESCRITORES:** Periodontite. Nível socioeconômico. Obesidade. Fumo. Álcool.

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** periodontal diseases are more prevalent in the population, which makes fundamental identify the epidemiological aspects related in this diseases. Thus, was assessed whether lifestyle features, sociodemographic factors and nutritional status were correlated with the presence or absence of periodontitis, as well as its severity. **Method:** This is a cross-sectional study of 77 subjects (aged 40-70 years), of both genders, volunteers from clinic Dentistry Course at the University of Santa Cruz do Sul. Was realized a questionnaire with the medical history, habits of smoke and alcohol, socioeconomic and anthropometric data. Clinically, were performed examinations of probing depth, bleeding on probing and clinical attachment loss of all teeth in the mouth of the patients that were divided into three groups: periodontal health, moderate periodontitis and severe periodontitis. **Results:** the average age of subjects was 52.32±6.86 years, mostly females. The prevalence of severe periodontal disease was aged between 50-59 years, as well as among those subjects with overweight and obesity. The consumption of smokers and drinkers was small (18% and 11% respectively). Was verified a significant association between periodontitis and socioeconomic status, and in classes A-B1, the majority of subjects were in good health (61%), while in the C2 classes most had severe periodontitis (47%). **Conclusion:** the less favored population financially had greater commitment periodontal and even with association with periodontitis, the other variables showed no significant difference.

**Keywords:** Periodontitis; Social Class, Obesity, Tobacco, Alcohol.

## INTRODUÇÃO

As periodontites são doenças infecto-inflamatórias nas quais o biofilme bacteriano subgengival é o agente desencadeador do processo de destruição dos tecidos de inserção dentária. A manifestação clínica da doença depende da resposta do hospedeiro e, devido a sua natureza multifatorial, a suscetibilidade parece ser influenciada pela interação de diversos fatores de risco que podem ser de ordem biológica, ambiental e/ou comportamental.<sup>1</sup>

Dentre os fatores de risco já estabelecidos na literatura para a periodontite estão o fumo, o diabetes e determinadas bactérias patogênicas.<sup>2-4</sup> Outros fatores e/ou indicadores de risco que podem estar relacionados às doenças periodontais são as questões sociodemográficas e de estilo de vida.<sup>5-9</sup> Evidências sugerem que o índice de massa corporal (IMC) é capaz de afetar a saúde periodontal dos indivíduos, sendo que um IMC elevado, aumenta a chance de se ter periodontite.<sup>10-11</sup>

Haas et al. pesquisaram a influência do estilo de vida, avaliando a idade, gênero, etnia e nível socioeconômico em relação a prevalência, extensão e gravidade da periodontite.<sup>5</sup> Estes autores puderam verificar que 56% e 36% dos sujeitos mostraram progressão da perda de inserção  $\geq 3\text{mm}$  afetando mais de dois e mais de quatro dentes respectivamente. Uma substancial progressão da perda de inserção  $\geq 5\text{mm}$  foi incomum. Além disso, eles também observaram que o envelhecimento parece ter um importante impacto sobre a saúde periodontal, porque a progressão da perda de inserção aumentou com a idade e, ainda, foi consistentemente maior entre os homens, indivíduos não brancos e sujeitos com baixo nível socioeconômico.

Segundo Buchwald et al., a progressão da perda de inserção periodontal parece estar associada a uma baixa renda que, juntamente com um baixo grau de escolaridade, associam-se a uma maior perda de dentes.<sup>6</sup> Além disso, o alto consumo de álcool também tem sido relacionado ao aumento na prevalência e severidade da periodontite e a uma maior necessidade de tratamento periodontal.<sup>7-8</sup> Outro achado importante na literatura é de que indivíduos obesos possuem uma maior probabilidade de terem periodontite.<sup>9-11</sup>

Diante deste contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar se as características do estilo de vida, assim como fatores sociodemográficos e o estado nutricional estariam correlacionados à presença ou não de periodontite e também com a sua severidade.

## MÉTODOS

Foram convidados a participar da presente pesquisa, indivíduos, com idade entre 40 a 70 anos, de ambos os sexos, que realizavam consultas junto à Clínica do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), na cidade de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, totalizando uma amostra de 77 indivíduos. Para o cálculo amostral, baseado em estudos prévios, considerou-se que uma amostra mínima de 20 pacientes em cada grupo seria suficiente para avaliar diferenças com intervalo de confiança de 95%. A fim de compensar a possibilidade de ocorrerem algumas desistências, foram selecionados 26 voluntários para o grupo saúde periodontal (grupo controle); 26 com doença periodontal crônica moderada e 25 com doença periodontal crônica severa, totalizando 28% a mais de indivíduos na amostra total. Não houve recusa ou desistência em algum momento da pesquisa pelos indivíduos participantes. Todos os sujeitos que aceitaram participar do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), seguindo a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Os indivíduos foram identificados por códigos para que fosse respeitada a privacidade de cada indivíduo.

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Santa Cruz do Sul, Brasil (número do CAAE 49793615.9.0000.5343).

Um questionário foi aplicado, por um entrevistador devidamente treinado, envolvendo questões autorreferidas e relacionadas às características demográficas, tais como idade, gênero e etnia; história médica pregressa de doenças sistêmicas como o *diabetes mellitus*; hábitos de fumo e álcool; além de dados socioeconômicos, classificados de acordo com o critério da Associação Brasileira das Empresas de Pesquisas (ABEP).<sup>12</sup> Juntamente a entrevista, os indivíduos foram interrogados com relação a seu peso e altura, a fim de se avaliar o índice de massa corporal (IMC), seguindo os critérios recomendados pela *World Health Organization* (WHO).<sup>13</sup>

O levantamento de ocorrência de *diabetes mellitus* nos sujeitos da amostra se deve ao fato de que estudos preliminares indicam que indivíduos com esta doença podem apresentar um risco aumentado de perda de dentes, especialmente devido ao aumento do risco de periodontite.<sup>3</sup> Portanto, a presença do *diabetes* foi considerada como uma variável importante e que poderia estar relacionada com o aumento da severidade da doença periodontal.

Com relação ao hábito de fumar, os sujeitos foram questionados quanto a utilização de cigarros ou não em sua rotina. Ex-fumantes foram considerados como “não-fumantes” e aqueles que fumavam eventualmente, considerados “fumantes”. Na classificação quanto ao uso de bebida alcóolica, ficou estabelecido que os “consumidores” eram aqueles que bebiam álcool mais de duas vezes por semana, independentemente se fosse bebida fermentada ou



destilada.

Além disso, seguindo o questionário da ABEP<sup>12</sup> para classificação econômica, preconizou-se a utilização do grau de instrução do chefe da família ao invés daquele do próprio sujeito da amostra. Para a análise de dados, o nível de escolaridade foi agrupado da seguinte forma: analfabeto até ensino médio incompleto, médio completo e superior completo.

Para o exame clínico periodontal, foram realizados os exames de profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e perda de inserção clínica de todos os dentes presentes, em seis sítios por dente (disto-vestibular; médio-vestibular; mesio-vestibular; mesio-lingual; médio-lingual e disto-lingual), com sonda periodontal manual milimetrada, com as seguintes marcações: 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 e 10 mm (*F.O.A 23 W - Neumar*®), por um profissional de odontologia. Ficou estabelecido que os pacientes saudáveis eram aqueles sem sinais inflamatórios e com profundidade de sondagem de até 3 ou 4 mm. Sujeitos com doença periodontal moderada, foram identificados com presença de sinais inflamatórios, ou seja, com sangramento a sondagem e também com perda de inserção periodontal  $\geq 5$ mm, em 15-50% dos dentes. E, com periodontite severa, os pacientes com sinais inflamatórios e perda de inserção periodontal  $\geq 5$ mm, em  $\geq 50\%$  dos dentes.

A análise estatística foi realizada no *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 20.0 (Chicago, IL). Para comparação do diagnóstico periodontal e características demográficas foi realizado o teste qui-quadrado ( $X^2$ ). O nível de significância utilizado foi  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

A tabela 1 descreve as características de distribuição da amostra, de acordo com gênero, faixa etária, etnia e histórico de presença ou não de doenças sistêmicas atual e/ou pregressa. A maior parte da amostra foi composta por mulheres (53%) e média de idade  $52,32 \pm 6,86$  anos. Na faixa etária entre 50-59 anos estava a maioria dos indivíduos com doença periodontal severa. Apenas quatro indivíduos (5%) eram negros e a minoria dos sujeitos do estudo apresentava história de doenças sistêmicas (12%).

**Tabela 1. Distribuição da amostra de acordo com gênero, faixa etária, etnia e doenças sistêmicas.**

	Diagnóstico Periodontal			P
	Saúde Periodontal	Periodontite Moderada	Periodontite Severa	
<i>n</i> (77)	26 (33%)	26 (33%)	25 (32%)	

<b>Gênero</b>				0,57
<b>Masculino</b>	10 (27%)	13 (36%)	13 (36%)	
<b>Feminino</b>	16 (39%)	13 (31%)	12 (29%)	
<b>Faixa etária</b>				0,55
<b>40-49</b>	10 (37%)	11 (40%)	6 (22%)	
<b>50-59</b>	13 (34%)	10 (26%)	15 (39%)	
<b>60-70</b>	3 (25%)	5 (41%)	4 (33%)	
<b>Etnia</b>				0,36
<b>Branco</b>	24 (32%)	24 (32%)	25 (34%)	
<b>Negro</b>	2(50%)	2 (50%)	0(0%)	
<b>Doenças</b>				0,31
<b>Nenhuma</b>	25 (36%)	22 (32%)	21 (30%)	
<b>Diabete Mellitus</b>	1 (11%)	4 (44%)	4 (44%)	

p: nível de significância de acordo com o teste de chi-quadrado ( $p \leq 0,05$ ).

Com relação aos hábitos de estilo de vida dos participantes observou-se que a maioria da população não fumava (81%) e também não consumia bebida alcoólica mais de duas vezes por semana (88%). Além disso, 59% dos participantes apresentavam sobrepeso ou obesidade, no qual destes indivíduos, a maior parte possuía periodontite severa (39%) (Tabela 2).

Verificou-se uma associação significativa entre a periodontite e a classe socioeconômica ( $p=0,02$ ), na qual 48% indivíduos ( $n=37$ ) pertenciam a classe econômica B2-C1 (Tabela 2). Na classe A-B1, a maioria dos indivíduos (61%) estava com saúde periodontal, enquanto que na classe C2-D-E, a maior parte dos três grupos (47%) estava com periodontite severa.

**Tabela 2. Descrição da amostra de acordo com os hábitos de estilo de vida (fumo, álcool), com o IMC, nível socioeconômico, grau de escolaridade e número de dentes presentes.**

<b>Diagnóstico Periodontal</b>				
	<b>Saúde Periodontal</b>	<b>Periodontite Moderada</b>	<b>Periodontite Severa</b>	<b>P</b>
<b>n (77)</b>	26 (33%)	26 (33%)	25 (32%)	
<b>Fumo</b>				0,53
<b>Não</b>	23 (36%)	20 (31%)	20 (31%)	
<b>Sim</b>	3 (21%)	6 (42%)	5 (35%)	
<b>Álcool</b>				0,07
<b>Não consome</b>	25 (36%)	20 (29%)	23 (33%)	
<b>Consome</b>	1 (11%)	6 (66%)	2 (22%)	
<b>IMC</b>				0,35
<b>Baixo Peso</b>	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	
<b>Eutrófico</b>	13 (44%)	10 (34%)	6 (20%)	
<b>Sobrepeso, Obesidade</b>	13 (28%)	15 (32%)	18 (39%)	

<b>Nível Sócioeconômico</b>				<b>0,02</b>
<b>A, B1 (38-100)</b>	13 (61%)	5 (23%)	3 (14%)	
<b>B2, C1 (23-37)</b>	10 (27%)	14 (37%)	13 (35%)	
<b>C2, D-E (0-22)</b>	3 (15%)	7 (36%)	9 (47%)	
<b>Escolaridade (Chefe da Família)</b>				<b>0,21</b>
<b>Analfabeto–médio incom.</b>	9 (23%)	13 (34%)	16 (42%)	
<b>Médio completo</b>	9 (37%)	8 (33%)	7 (29%)	
<b>Superior completo</b>	8 (53%)	5 (33%)	2 (13%)	
<b>Número de Dentes presentes</b>				<b>0,00</b>
<b>1-10</b>	2 (11%)	5 (27%)	11 (61%)	
<b>11-20</b>	5 (31%)	2 (12%)	9 (56%)	
<b>≥21</b>	19 (44%)	19 (44%)	5 (11%)	

p: nível de significância de acordo com o teste de chi-quadrado ( $p \leq 0,05$ ).

Em relação ao grau de escolaridade, 49% ( $n=38$ ) dos sujeitos estavam no grupo analfabeto até ensino médio incompleto, sendo que a maior parte destes indivíduos estavam com periodontite severa (42%). Quanto ao número de dentes, verificou-se que 55% participantes ( $n=43$ ) apresentavam um número igual ou maior do que 21 dentes presentes. Verificou-se também que quanto maior o número de dentes presentes, maior foi o número de indivíduos com saúde periodontal. Entretanto, observou-se que no grupo com maior número de perdas dentárias, haviam mais participantes com periodontite severa.

## DISCUSSÃO

A desigualdade socioeconômica e seu impacto nas condições de saúde das pessoas e grupos humanos tem se tornado um importante tema de pesquisa em saúde coletiva. Cada grupo social apresenta riscos diferentes para muitas doenças, bem como o acesso desigual aos serviços de saúde, especialmente aqueles que procuram o atendimento odontológico<sup>14</sup>. Neste estudo, os dados analisados indicaram uma associação significativa entre a doença periodontal e o baixo nível socioeconômico. Os indivíduos menos favorecidos economicamente (pertencentes às classes C2, D e E) apresentaram mais periodontite, especialmente, a forma severa, ao contrário dos da classe A, cuja maioria pertenciam ao grupo saúde. Estes resultados corroboraram com outros estudos nos quais também foram observadas associações entre a doença periodontal e um nível socioeconômico inferior.<sup>5, 15, 16</sup>

No que se refere ao grau de escolaridade, pode-se observar que os resultados deste estudo foram similares ao trabalho de Vano et al. que verificou que indivíduos com baixo nível educacional tiveram uma associação significativa com a doença periodontal.<sup>17</sup> Entretanto, cabe ressaltar que o número de indivíduos da classificação Analfabeto até ensino

médio incompleto do presente estudo ( $n=38$ ; 49%) possivelmente esteja superestimado, pois nesta classificação entraram aqueles indivíduos que nunca estudaram e também aqueles que realizaram ensino fundamental I incompleto, fundamental I completo e fundamental II incompleto, além daqueles que estudaram ensino fundamental II completo, mas ensino médio incompleto.

A ocorrência de diferentes profundidades de bolsa periodontal foi analisada por Susin et al.<sup>18</sup>, em uma população obtida de 11 áreas geográficas distintas da região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Este foi um estudo epidemiológico com 853 indivíduos dentados com idade variando entre 30 e 103 anos, no qual os autores observaram que 65% e 25% dos indivíduos apresentaram, respectivamente, profundidade de bolsa  $\geq 5$  mm e  $\geq 7$  mm. Além disso, eles verificaram que a frequência de bolsa com profundidade  $\geq 5$  mm foi maior em homens e indivíduos não-brancos. Observaram também que fumantes apresentaram, significativamente, mais bolsas  $\geq 5$  mm do que os não fumantes. No presente estudo, 20% ( $n=16$ ) e 27% ( $n=21$ ) dos indivíduos apresentaram, respectivamente, profundidade de bolsa  $\geq 5$  mm e  $\geq 7$  mm, diferentemente dos resultados de Susin et al., cujos resultados mostraram uma prevalência maior de bolsas  $\geq 5$  mm. Apesar disto, a frequência de bolsa com profundidade  $\geq 5$  mm também foi maior em homens: 72% ( $n=26$ ) dos homens e apenas 60% ( $n=25$ ) das mulheres. Como a amostra de sujeitos não-brancos foi muito pequena ( $n=4$ ) neste estudo, não foi possível analisar esta variável.

O efeito do fumo na saúde periodontal é sabido ser dependente da relação dose-resposta e do tempo de exposição do fumo ao longo da vida.<sup>2, 15</sup> Isto significa que uma maior quantidade de cigarros fumados por dia e por mais anos ao longo da vida, acarretará maiores efeitos sobre o periodonto. Apesar da relação entre fumo e doença periodontal estar bem estabelecida na literatura, a amostra de indivíduos fumantes no presente estudo foi pequena ( $n=14$ ) para que fossem observados efeitos significativos.<sup>2</sup> Entretanto, observou-se que entre indivíduos fumantes, a sua maioria (78%;  $n=11$ ) era portador de periodontite.

Dantas et al. verificaram que o consumo de álcool crônico pode afetar o sistema imune ao reduzir a capacidade dos indivíduos de combater infecções, tornando-os mais propensos a serem infectados por uma variedade de agentes patogênicos.<sup>19</sup> Hornecker et al., por sua vez, relataram um maior risco de destruição periodontal e perdas dentárias em consumidores pesados de bebida alcóolica.<sup>20</sup> Os autores indicam ainda que o efeito nas doenças periodontais parece resultar de auto negligência devido ao consumo crônico deste tipo de bebida. Além disso, eles concluíram que 52% dos consumidores pesados de álcool frequentemente esqueciam-se de escovar seus dentes. O uso excessivo deste tipo de bebida em longo prazo,

também pareceu afetar o metabolismo ósseo no estudo de Moniz, o que pode explicar a perda óssea extensiva ao redor de dentes com periodontite.<sup>21</sup> Apesar destas evidências, no presente estudo, a amostra de consumidores de álcool foi muito pequena para que se verificassem diferenças significativas, porém, o que se pode observar é que entre os indivíduos que bebiam mais do que duas vezes por semana, a maioria (88%) apresentava doença periodontal. Estes achados são semelhantes aos resultados do estudo de Park et al., no qual constataram inclusive que indivíduos do sexo masculino e com maior idade, IMC e circunferência da cintura elevado, diabetes, hipertensão e com síndrome metabólica, apresentaram necessidade de tratamento periodontal.<sup>8</sup>

Recentes estudos têm mostrado que o sobrepeso e obesidade estão relacionados com o aumento na suscetibilidade e severidade das doenças periodontais, corroborando com os resultados do presente estudo.<sup>9, 22-24</sup> A plausibilidade biológica desta associação é baseada no efeito da liberação de citocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo, sugerindo que mecanismos similares ocorrem na pato-fisiologia da obesidade e periodontite e, também, que a secreção destas substâncias poderia induzir a resposta hiperinflamatória na doença periodontal.<sup>25</sup>

Finalmente, foi possível identificar neste estudo que dentre aqueles indivíduos com menor número de dentes presentes (1 a 10), a maioria (61%) estava com periodontite severa, o que pode indicar ser a perda dental um importante agravo da doença periodontal. Entretanto, a maior parte da amostra (55%), apresentou um número de dentes presentes  $\geq 21$ . Este resultado nos mostra que, atualmente, os indivíduos têm conseguido preservar mais seus dentes, possivelmente devido aos recentes investimentos feitos pelo Ministério da Saúde que implementou mais de 400 Centros de Especialidades Odontológicas, unidades de atenção secundária em saúde bucal, em todo o território nacional. Através destes Centros, pretendeu-se oferecer, dentre outras possibilidades terapêuticas, a reabilitação e a manutenção da dentição.<sup>26</sup> Eickholz et al., por sua vez, realizaram um estudo através do qual puderam verificar que os pacientes que receberam tratamento periodontal, possuíam uma higiene oral eficaz e ainda que participaram regularmente de terapia periodontal de suporte, foram capazes de manter um resultado benéfico do tratamento a longo-prazo, impedindo as perdas dentais.<sup>27</sup>

Sendo assim, conclui-se que o conhecimento dos fatores e indicadores de risco das doenças periodontais é muito importante na prevenção, bem como no tratamento das mesmas. O status socioeconômico mais baixo dos indivíduos foi fortemente associado a presença de doença periodontal. Neste sentido, medidas populacionais poderiam ser tomadas para mudar esta realidade, tais como a ampliação da área de abrangência dos centros de especialidades.

Além disso, o fato de a amostra não ter sido grande o suficiente em algumas variáveis analisadas, instiga ainda mais a realização de novas pesquisas que possam contribuir com a promoção da saúde da população em geral.

## REFERÊNCIAS

- 1- Cury P R, Joly J C, Araújo V C, et al. Periodontite: fator de risco para doenças sistêmicas? RGO2003; 51(4): 210-214.
- 2- Tanner T, Pääkkilä J, Karjalainen K, et al. Smoking, alcohol use, socioeconomic background and oral health among Young Finnish. Community Dent Oral Epidemiol 2015; 43(5): 406-414. DOI: 10.1111/cdoe.12163.
- 3- Jimenez M, Hu F B, Marino M, et al. Type 2 diabetes mellitus and 20 year incidence of periodontitis and tooth loss. Diabetes Research and Clinical Practice 2012; 98 (3): 494-500.
- 4- Leon VHR, Santos-Lima EKN, Pimentel ACM, et al. PorphyromonasGingivalis e Periodontite Crônica - Avanços Recentes. Rev Bahiana Odont 2016; 7 (2): 147-154. DOI: <http://dx.doi.org/10.17267/2238-2720revbahianaodonto.v7i2.885>.
- 5- Haas A N, Gaio E J, Oppermann R V, et al. Pattern and rate of progression of periodontal attachment loss in an urban population of South Brazil: a 5-years population-based prospective study. J Clinical Periodont 2012; 39 (1): 1-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01818.x>.
- 6- Buchwald S, Kocher T, Biffar R, et al. Tooth loss and periodontitis by socio-economic status and inflammation in a longitudinal population-based study. J Clinical Periodont 2013;40 (3): 203-211. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.12056>.
- 7- Lages EJP, Costa FO, Lages EMB, et al. Risk variables in the association between frequency of alcohol consumption and periodontitis. J Clinical Periodont 2012; 39 (2): 115-122.
- 8- Park J-B, Han K, Park Y-G, et al. Association Between Alcohol Consumption and Periodontal Disease: The 2008 to 2010 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. J Periodont 2014; 85 (11): 1521-1528.
- 9- DallaVecchia CF, Susin C, Rösing CK, et al. Overweight and Obesity as Risk Indicators for Periodontitis in Adults. J Periodont 2005; 76 (10): 1721-1728.
- 10- Chaffee B W, Weston S J. Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. J Periodont 2010; 81(12): 1708-1724.
- 11- Pataro A, Costa F, Cortelli S, et al. Association between severity of body mass index and periodontal condition in women. Clin Oral Invest 2012; 16 (3): 727-734. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00784-011-0554-7>.
- 12- ABEP 2015. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Disponível em <[www.abep.org](http://www.abep.org)> Acesso em: 28 de julho de 2015.

- 13- World Health Organization. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Geneva: World Health Organization; 1990. (WHO Technical Report Series 797).
- 14- Krieger N, Williams DR, Moss NE. Measuring social class in U.S. public health research: concepts, methodologies and guidelines. *Annu Rev Publ Health* 1997; 181 (1): 431-378.
- 15- Susin C, DallaVecchia CF, Oppermann RV, et al. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Periodont* 2004; 75 (7): 1033-1041.
- 16- Lopes R, Fernández O, Baelum V. Social gradients in periodontal diseases among adolescents. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 2006; 34(3): 184-196.
- 17- Vano M, Genai S, Karapetsa D, et al. The influence of educational level and oral hygiene behaviours on DMFT index and CPITN index in an adult Italian population: an epidemiological study. *Int J Dent Hygiene* 2015; 13 (2): 151-157.
- 18- Susin C, Valle P, Oppermann RV, et al. Occurrence and risk indicators of increased probing depth in an adult Brazilian population. *J Clinical Periodont* 2005; 32 (2): 123-129.
- 19- Dantas AM, Mohn CE, Burdet B, et al. Ethanol consumption enhances periodontal inflammatory markers in rats. *Arch Oral Biol* 2012; 57 (9): 1211-1217.
- 20- Hornecker E, Torsten M, Hannelore, et al. A pilot study on the oral conditions of severely alcohol addicted persons. *J Contemp Dent Pract* 2003; 4 (2): 51-59.
- 21- Moniz C. Alcohol and bone. *Br Med Bull* 1994; 50 (1): 50-67.
- 22- Khader YS, Bawadi HA, Haroun TF, et al. The association between periodontal disease and obesity among adults in Jordan. *J Clinical Periodont* 2009; 36 (1): 18-24.
- 23- Linden G, Patterson C, Evans A, et al. Obesity and periodontitis in 60-70-years-old men. *J Clinical Periodont* 2007; 34 (6): 461-466.
- 24- Saito T, Shimazaki Y. Metabolic disorders related to obesity and periodontal disease. *Periodont* 2000 2007; 43 (1): 254-266.
- 25- Haffajee AD, Socransky S S. Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella forsythia*. *J Clinical Periodont* 2009; 36 (2): 89-99.
- 26- Ministério Da Saúde (BR). Departamento De Atenção Básica, Secretaria De Atenção À Saúde. Centro de especialidades: cidades atendidas. [http://dtr2004.saude.gov.br/dab/saudebucal/cidades\\_atendidas.php](http://dtr2004.saude.gov.br/dab/saudebucal/cidades_atendidas.php) (acessado em 10/Abr/2006).
- 27- Eickholz P, Kaltschmitt J, Berbig J, et al. Tooth loss after active periodontal therapy. 1: patient-related factors for risk, prognosis, and quality of outcome. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 165–174. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01184.x>.

**ARTIGO II**



**Este artigo está em preparação para ser submetido a Revista  
Journal of Periodontology - Qualis Interdisciplinar A2, Impact Factor: 1,71**

**ASSOCIAÇÃO DE DANOS CROMOSSÔMICOS COM A PERIODONTITE**

**ASSOCIATION OF CHROMOSOME DAMAGE WITH PERIODONTITIS**

Tatiana T. Borba\*, Patrícia Molz†, Caroline Santos‡, Diene S. Schlickmann‡, Daniel Prá§,  
Sílvia I. R. Franke§

\*Mestranda, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil e bolsista Capes (Coordenadoria  
de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)

† Doutoranda, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, RS Brasil

‡ Graduanda, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

§ Prof. Doutor(a), Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

Autor correspondente: Dra. Sílvia Isabel Rech Franke. Programa de Pós-graduação em  
Promoção da Saúde. Av. Independência, 2293, Sala 4206. Bairro Universitário, Santa Cruz do  
Sul-RS, CEP: 96815-900. RS, Brasil. Fone: +55-51-37177603; fax: +55-51-37171855. E-  
mail: [silviafr@unisc.br](mailto:silviafr@unisc.br)

## Resumo

**Justificativa:** A periodontite é uma infecção bacteriana caracterizada pela presença de um denso infiltrado inflamatório, o qual pode resultar em danos aumentados ao DNA. Uma vez que rupturas cromossômicas e a segregação cromossômica anormal, identificadas como micronúcleos (MN), são centrais para a transformação maligna, a influência das doenças periodontais sobre a frequência de MN tem sido objeto de pesquisa. Diante disto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito das doenças periodontais, conforme sua severidade, sobre a ocorrência de danos no DNA, determinados pelo ensaio de citoma de micronúcleos bucal (BMCyt).

**Método:** Para tanto, realizou-se um estudo transversal com 77 pacientes do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, que foram divididos em: grupo controle (26 indivíduos), grupo doença periodontal moderada (26 indivíduos) e grupo doença periodontal severa (25 indivíduos). Todos foram submetidos a questionários autorreferidos e ao exame clínico periodontal realizados por examinador devidamente treinado. Realizou-se também o BMCyt.

**Resultados:** Os resultados do presente estudo indicaram que o processo inflamatório que ocorre na periodontite não aumentou significativamente a frequência de micronúcleos, entretanto, de acordo com a severidade da doença, gerou danos ao DNA, o que foi verificado pelo aumento significativo de brotos nucleares entre o grupo periodontite severa quando comparado com o grupo periodontite moderada.

**Conclusão:** Sendo assim, conclui-se que há indícios de efeitos genotóxicos pela infecção periodontal, conforme a sua severidade.

**Descritores:** Ensaio de micronúcleos; periodontite; doenças periodontais.

## Abstract

**Background:** Periodontitis is a bacterial infection characterized by the presence of a dense inflammatory infiltrate, which may result in increased damage to DNA. Since chromosomal breaks and abnormal chromosome segregation, identified as micronuclei (MN), are central to malignant transformation, the influence of periodontal disease on the MN frequency has been the subject of research. So, the objective of this study was to evaluate the effect of periodontal disease, as its severity, on the occurrence of DNA damage determined by buccal micronucleus cytome assay (BMCyt).

**Methods:** For this, we performed a cross-sectional study with 77 patients of the Dentistry Course at the University of Santa Cruz do Sul, RS, Brazil, who were divided into health group (26 subjects), moderate periodontal disease group (26 subjects) and severe periodontal disease group (25 individuals). All patients underwent self-reported questionnaires and periodontal clinical examination performed by appropriately trained examiner. Also was did BMCyt.

**Results:** The results of this study indicate that the inflammatory process which occurs in periodontitis did not significantly increase the frequency of micronucleus, however, according to the severity of disease caused damage to DNA, which was verified by a significant increase in nuclear shoots of the severe periodontitis group compared with moderate periodontitis group.

**Conclusion:** Therefore, it is concluded that there are genotoxic effects of evidence by periodontal infection.

**Key words:** Micronucleus test; periodontitis; periodontal diseases.

### **Introdução:**

A periodontite pertence a um grupo de doenças inflamatórias caracterizadas pelo sangramento gengival, formação de bolsa periodontal, destruição do tecido conjuntivo de inserção, reabsorção óssea alveolar e pode, eventualmente, levar a perda de dentes.<sup>1</sup> Está entre as alterações orais mais frequentes e, histologicamente, caracteriza-se pela localização do epitélio juncional apical a junção cimento-esmalte, por perda de fibras de colágeno subjacente ao epitélio da bolsa e por um denso infiltrado inflamatório com neutrófilos, linfócitos e macrófagos.<sup>2</sup> Em sua patogênese, antígenos bacterianos modulam a resposta do hospedeiro, induzindo o aumento de citocinas pró-inflamatórias<sup>3</sup> que contribuem para a destruição dos tecidos moles e duros periodontais, bem como para a mobilidade dentária e para a perda dos dentes.<sup>4</sup>

A ativação do sistema imune e a reação bactericida que ocorrem na periodontite, contribuem para o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO)<sup>5</sup> que são potentes oxidantes que têm modificado bases no DNA, formando os micronúcleos. Também,

os leucócitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN), que são liberados pela resposta imuno-inflamatória do hospedeiro,<sup>3</sup> produzem e liberam uma grande quantidade de ERO, culminando em dano oxidativo do tecido gengival, ligamento periodontal e osso alveolar.<sup>6</sup>

Ao se analisar células esfoliadas da mucosa oral, é possível identificar biomarcadores para dano genômico, potencial proliferativo e morte celular.<sup>7</sup> Células com alterações morfológicas no núcleo, tais como cromatina condensada, células cariorréticas (núcleo fragmentado), células picnóticas (núcleo pequeno) ou células cariolíticas (células que perdem completamente o seu material nuclear), indicam diferentes estágios de apoptose.<sup>8</sup> Enquanto que células binucleadas, indicam defeitos de citocinese e a presença adicional de uma ou mais estruturas nucleares pequenas (micronúcleos) ou de um núcleo com uma aparente constrição em uma de suas terminações (brotos nucleares), representam biomarcadores para o dano no DNA.<sup>9</sup>

Um dos métodos mais estabelecidos para avaliar os danos ao DNA é o BMCyt, que analisa danos nos cromossomas *in vivo*.<sup>4</sup> Segundo Thomas et al., 2009, sua pesquisa nas células orais é minimamente invasiva e bastante promissora na monitorização de populações expostas a agentes genotóxicos como a doença periodontal, sendo os resultados também dependentes da genética, idade e do gênero dos indivíduos cujas células são testadas.

Como o dano ao DNA representa um evento crítico associado não somente a fase de iniciação, mas também as fases de promoção e progressão de eventos da carcinogênese,<sup>10</sup> justifica-se investigar se a periodontite pode, realmente, induzir danos cromossomais e, também, se o diagnóstico de tal condição, conforme sua severidade, pode servir como biomarcador da estabilidade genômica. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar se existem diferenças na frequência de danos ao DNA entre os pacientes com saúde e doença periodontal, conforme sua severidade, através do BMCyt, fazendo uma associação desta variável com o uso de tabaco, álcool e com o estado nutricional.

**Material e método:**

O estudo foi realizado com pacientes voluntários da Clínica do Curso de Odontologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), na cidade de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, nos meses de março a julho de 2016. Para o cálculo amostral, considerou-se que um mínimo de 20 pacientes em cada grupo seria suficiente para avaliar diferenças com intervalo de confiança de 95%, com base em estudos prévios. Então, para compensar a possibilidade de ocorrerem algumas desistências, foram selecionados 77 indivíduos, os quais foram distribuídos em 3 grupos: saúde periodontal (grupo controle - 26 indivíduos), grupo doença periodontal crônica moderada (26 indivíduos) e doença periodontal crônica severa (25 indivíduos). Como não houve recusa ou desistência em algum momento da pesquisa pelos indivíduos participantes, a amostra contou com um  $n$  28% maior. Todos os sujeitos que aceitaram participar do estudo, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), seguindo a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Os indivíduos foram identificados por códigos para que fosse respeitada a sua privacidade e para que as examinadoras estivessem cegas durante o BMCyt.

Trata-se de um estudo transversal, aprovado pelo Comitê de Ética da UNISC (número do CAAE 49793615.9.0000.5343), do qual fizeram parte apenas indivíduos com idade entre 40 e 70 anos, de ambos os sexos. Dentre estes participantes, foram excluídos: gestantes, indivíduos que tivessem perdido ou ganhado  $\geq 5$  kg nos últimos 6 meses, com antecedentes de câncer, quimioterapia ou radioterapia.

Foi aplicado um questionário autorreferido, por entrevistador devidamente treinado, envolvendo questões referentes a características demográficas, história de uso de medicações, hábitos como fumo e álcool, além de dados antropométricos para classificação do estado nutricional conforme critérios recomendados pela *World Health Organization* [IMC= peso/altura<sup>2</sup>, sendo IMC < 18,5 kg/m<sup>2</sup> (Baixo peso); IMC  $\geq$  18,5 e até 24,9 kg/m<sup>2</sup> (Eutrófico);

IMC  $\geq 25$  e até 29,9 kg/m<sup>2</sup> (Sobrepeso) e IMC  $\geq 30,0$  kg/m<sup>2</sup> (Obeso)].<sup>11</sup>

Todos os pacientes foram submetidos a exame clínico periodontal feito por um cirurgião-dentista que foi o único examinador a realizar os exames de profundidade de sondagem, sangramento a sondagem e perda de inserção de todos os dentes presentes, em seis sítios por dente (disto-vestibular; medio-vestibular; mesio-vestibular; mesio-lingual; médio-lingual e disto-lingual), com sonda periodontal milimetrada, com as seguintes marcações: 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 e 10 mm (F.O.A 23 W - Neumar®). Estabeleceu-se que os pacientes saudáveis eram aqueles com ausência de sinais inflamatórios e com profundidade de sondagem de até 3 ou 4 mm. Sujeitos com doença periodontal moderada, aqueles com presença de sinais inflamatórios, ou seja, com sangramento a sondagem e também com perda de inserção periodontal  $\geq 5$ mm, em 15-50% dos dentes. Com periodontite severa, os pacientes com sinais inflamatórios e perda de inserção periodontal  $\geq 5$ mm, em  $\geq 50\%$  dos dentes.<sup>12</sup> Realizou-se uma verificação da reprodutibilidade intra-examinador, através da qual 5% da amostra foi reexaminada, obtendo-se uma concordância de 91% nos valores globais.<sup>13</sup>

O BMCyt foi realizado conforme protocolo de Thomas et al. (2009).<sup>8</sup> Então, após o exame clínico periodontal, os sujeitos da amostra fizeram um bochecho com água destilada e as células do epitélio bucal foram coletadas na mucosa jugal do lado direito e esquerdo da boca dos pacientes, utilizando-se escova *cytobrush* de forma circular e em espiral (vinte vezes de cada lado). Na sequência, estas escovas foram armazenadas em *ependorf* contendo 1mL de metanol e mantidas sob refrigeração até que fossem confeccionadas as lâminas. Após secar em temperatura ambiente, sucedeu-se a coloração com *Feulgen* e *Light Green* e a análise das lâminas em microscópio óptico com magnificação de 400X. Foram feitas duas lâminas por indivíduo e a análise de todas elas foi executada por cada uma das duas examinadoras de forma independente, sendo que as mesmas estavam treinadas, tinham experiência e os valores foram apresentados conforme a média de ambas.

Após a coleta dos dados, os mesmos foram digitados e analisados no programa estatístico para ciências sociais (SPSS, Inc., ArmonK, NY, USA, v. 20.0). O teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn e o teste de Spearman foram empregados para análise das variáveis.  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

### **Resultados**

A amostra final foi composta por 77 indivíduos, com média de idade de  $52,32 \pm 6,86$  anos e predomínio do sexo feminino (53%). A prevalência de tabagistas variou entre 12% e 23% entre os grupos, não diferindo significativamente, enquanto que a de etilistas variou entre 0,4% e 23% entre os grupos, também não diferindo significativamente. A prevalência de sobrepeso/obesidade variou entre 50% e 72% entre os grupos e, da mesma forma, não diferiu significativamente. Estas características de distribuição da amostra de acordo com sexo, faixa etária, consumo de tabaco, álcool e IMC podem ser observadas na tabela 1.

A frequência média de micronúcleos para a população total foi de  $2,44 \pm 0,95$  micronúcleos por 1000 células/indivíduo. E, ao se avaliar as frequências dos tipos de dano, os mesmos não diferiram de acordo com tabagismo ( $p > 0,15$ ), com sobrepeso/obesidade ( $p > 0,43$ ) e, também, as frequências dos tipos de dano não diferiram conforme o etilismo ( $p > 0,37$ ).

Na figura 1, estão apresentados os resultados do BMCyt, nos diferentes grupos da amostra, sob o ponto de vista periodontal. Ao se analisar a figura 1 a, é possível verificar que houve diferença significativa na porcentagem de células binucleadas, o que entende-se por defeito de citocinese, entre os grupos saúde e doença periodontal crônica severa. A figura 1 b também indica diferença significativa, porém com relação a porcentagem de brotos nucleares encontrados nas células dos sujeitos com periodontite crônica severa quando comparadas com as da forma moderada e que, portanto, a ocorrência de dano ao DNA aumentou com a severidade da periodontite.

A tabela 2 mostra a média, o desvio padrão e mediana das células binucleadas, brotos nucleares, micronúcleos, células picnóticas, cariolíticas e células cariorréticas nos diferentes grupos da amostra.

A figura 2 (B) também indica que houve um aumento significativo na frequência de brotos nucleares proporcional ao aumento na severidade da periodontite quando se utilizou uma unidade arbitrária de perda de inserção para categorização da doença periodontal. Da mesma forma, pode-se observar um aumento significativo no número total de danos juntamente com o aumento na severidade da periodontite (Figura 3).

### **Discussão**

A periodontite corresponde a um estado de inflamação crônica que está associado à produção de ERO.<sup>14</sup> Conseqüentemente, o estresse oxidativo, que é aumentado em tal condição,<sup>14</sup> pode interagir com os três estágios de desenvolvimento do câncer (iniciação, promoção e progressão). Na iniciação, as ERO são capazes de produzir danos ao DNA através da introdução de mutações genéticas e alterações estruturais no DNA. Durante a fase de promoção, podem contribuir para a expressão genética anormal, no aumento na proliferação celular ou diminuição da apoptose da população de células. E, na fase de progressão, adicionam mais alterações ao DNA.<sup>15</sup>

Poucos são os estudos nos quais a ocorrência de danos genéticos associados com doenças periodontais foi avaliada.<sup>16-18; 10; 4</sup> A caracterização das células orais esfoliadas do presente estudo, permitiu-nos observar que os resultados obtidos vão ao encontro daqueles publicados por Brandão et al., 2015,<sup>16</sup> que verificaram não haver diferença estatisticamente significante entre os grupos (saúde, gengivite e periodontite) com relação a ocorrência de micronúcleos. Porém, também observaram, no que se refere a ocorrência de apoptose, inferida pela soma de células cariorréticas, picnóticas e com cromatina condensada, que houve uma frequência significativamente mais alta nos indivíduos do grupo periodontite quando



comparados ao grupo saúde. Enquanto que ao comparar o grupo saúde com o gengivite, não houve significância. O presente estudo, teve diferença metodológica, comparando-se ao estudo de Brandão et al., 2005,<sup>16</sup> no que se refere aos grupos incluídos na pesquisa, uma vez que estes autores utilizaram um grupo com gengivite, ao invés do grupo periodontite crônica moderada. O critério diagnóstico para classificação da periodontite também diferiu. Apesar disto, os resultados foram semelhantes com relação a frequência de micronúcleos que não foi diferente estatisticamente e, também, houve um aumento na ocorrência de células cariorréticas e picnóticas nos grupos periodontite, que foi maior conforme a severidade, do que no grupo saúde periodontal.

D'Agostini et al. 2013,<sup>17</sup> também não observaram aumento significativo na frequência de micronúcleos em indivíduos com gengivite e periodontite com diferentes graus de severidade, corroborando com os resultados do presente estudo. Ao analisar a exposição ao fumo na indução de micronúcleos, os mesmos autores também não verificaram efeitos significantes, talvez em função de a coleta das células ter sido feita de dentro do sulco gengival, região menos exposta ao tabaco dentro da boca.

Diferentemente, Bloching et al. 2008,<sup>18</sup> constataram um aumento na ocorrência de micronúcleos em indivíduos com periodontite severa ( $2.16 \pm 0,85$ ) quando comparados com indivíduos com periodontite moderada ( $1,91 \pm 1,04$ ) e sem doença periodontal ( $1,5 \pm 1.96$ ). Os autores sugerem que este aumento pode ser devido a interação entre as bactérias patogênicas periodontais e a mucosa, ou seja, os compostos sulfúricos voláteis que são formados por patógenos gram-negativos anaeróbios, especialmente *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia*, aumentam a permeabilidade da mucosa oral. Neste estudo, a condição periodontal foi classificada de acordo com o Índice de Severidade da Periodontite de Bengel<sup>19</sup> que determina a porcentagem

de perda óssea do dentes a partir de radiografias, diferentemente do critério para classificação da periodontite do presente estudo.

Zamora-Perez et al. 2015,<sup>10</sup> também indicaram, através de sua pesquisa, alta incidência de micronúcleos, cromatina condensada e células cariorréticas em indivíduos com periodontite (agressiva e crônica) quando comparados com indivíduos sem doença periodontal. Para classificação da periodontite, os autores descrevem ter sido feito exame do nível clínico de inserção em quatro sítios por dente com os resultados expressos com média. A amostra total foi composta por 160 indivíduos, entre os quais foram excluídos fumantes, indivíduos que consumiam álcool, gestantes, diabéticos e com histórico de câncer. E, o ensaio citoma de micronúcleos foi realizado de acordo com o protocolo de Thomas et al., 2009.<sup>8</sup>

Bastos-Aires et al. 2012<sup>20</sup> verificaram uma diferença entre o grupo de casos e de controle no que diz respeito às células basais, com micronúcleos e cariolíticas, entretanto trata-se de um estudo piloto e com amostra de apenas 10 indivíduos.

A ocorrência de danos ao DNA avaliada em células da mucosa oral e sua relação com as doenças periodontais é uma importante área de pesquisa, mas que precisa de investigações adicionais, com estudos de intervenção para que se avalie também os efeitos da terapia periodontal na ocorrência de mudanças nucleares. Os achados do presente estudo indicaram que o processo inflamatório que ocorre na periodontite não aumentou significativamente a frequência de micronúcleos, entretanto, de acordo com a severidade da doença, parece estar associada a ocorrência de danos ao DNA, o que foi verificado pelo aumento significativo de brotos nucleares entre o grupo periodontite severa quando comparado com o grupo periodontite moderada.

## **Referências**

- 1- Papapanou, P. N. (1999) Epidemiology of periodontal diseases: an update. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 1, 110-116.
- 2- Pihlstrom, B. L.; Michalowicz, B. S.; Johnson, N. W. (2005) Periodontal diseases. *Lancet*, 366,

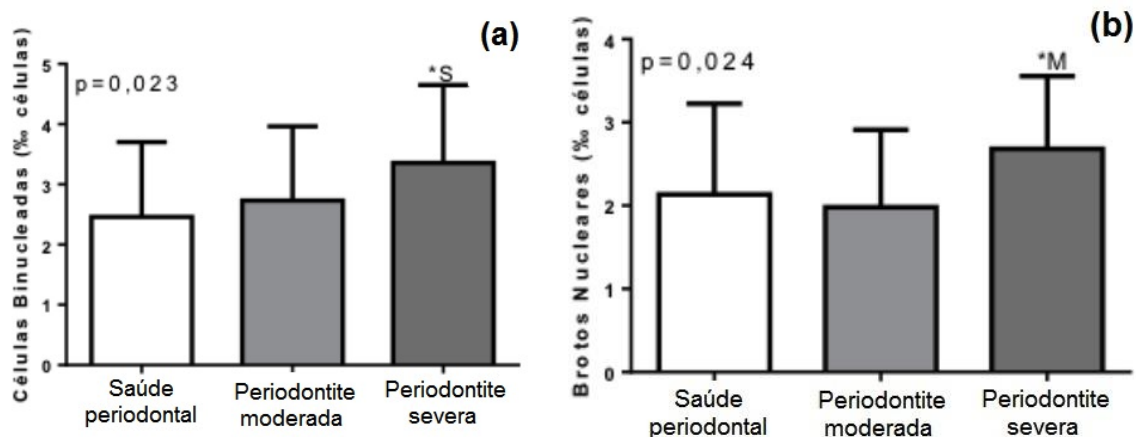
1809-1820.

- 3- Page, R. C.; Kornman, K. S. (1997) The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000, 14, 9-11.
- 4- Corbi, S. C. T.; Bastos, A. S.; Orrico, S. R. P. et al. (2014) Elevated micronucleus frequency in patients with type 2 diabetes, dyslipidemia and periodontitis, *Mutagenesis*, 18, 1-7.
- 5- Chapple, I. L.; Matthews, J. B. (2007) The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology* 2000, 43,160-232.
- 6- Sculley, D. V.; Langley-Evans, S. C. (2002) Salivary antioxidants and periodontal diseases status. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61,137-143.
- 7- Holland, N.; Bolognesi, C.; Kirsch-Volders, M.; et al. (2008) The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN Project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*, 659, 93-108.
- 8- Thomas, P.; Holland, N.; Bolognesi, C.; et al. (2009) Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocol*, 4, 825-37.
- 9- Fenech, M.; Kirsch-Volders, M.; Natarajan, A. T.; et al. (2011) Molecular mechanism of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26, 125-32.
- 10- Zamora-Perez, A. L.; Ortiz-García, Y. M.; Lalalde-Ramos, B. P. (2015) Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases. *Journal of Periodontology Research*, 50, 28-36.
- 11- World Health Organization (1990) *Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases*. Geneva: World Health Organization; (WHO Technical Report Series 797).
- 12- Susin, C.; Dalla Vecchia, C. F.; Oppermann, R. V.; Haugejorden, O.; Albandar, J. M. (2004) Periodontal Attachment Loss in an Urban Population of Brazilian Adults: Effect of Demographic, Behavioral, and Environmental Risk Indicators. *Journal of Periodontology*, 75, 1033-1041.
- 13- Pereira AC, Vieira V, Frias AC. Projeto SB-SP Manual de Calibração dos Examinadores: Secretaria Estadual de Saúde do Estado de São Paulo. Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp; 2015. 1-12..
- 14- Chapple, I.L.C.; Matthews, J.B. (2007) The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology* 2000, 43,160-232.
- 15- Reuter, S.; Gupta, S. C.; Chaturvedi, M. M.; Aggarwal, B. B. (2010) Oxidative stress, inflammation and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology Medicine*, 49, 1603-1616.
- 16- Brandão, P. T. J.; Gomes-Filho, I. S.; Cruz, S. S. et al. (2015) Can periodontal infection induce genotoxic effects? *Acta Odontologica Scandinava*, 73, 219-225.
- 17- D'agostini, F.; Calcagno, E.; Micale, R. T. et al. (2013) Cytogenetic analysis of gingival epithelial cells, as related to smoking habits and occurrence of periodontal disease. *Int J Hyg Environ Health*, 216, 71-5.

- 18- Bloching, M.; Reichb, M.; Schubertb, J.; Grummtc, T.; Sandnerd, A. (2008) Micronucleus rate of buccal mucosal epithelial cells in relation to oral hygiene and dental factors. *Oral Oncology*, 44, 220-6.
- 19- Bengel, W. Früherkennung paradontaler Erkrankungen: Der paradontale Screening Index (PSI). *Quintessenz Team Journal*, 2002; 32 (1): 19-23.
- 20- Bastos-Aires, Diana; Azavedo, A.; Pereira, M. L. Mongiovi, D. P.; Teixeira, A. Estudo preliminar dos tipos celulares da mucosa oral em pacientes com doença periodontal. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 2012; 53 (2): 99-102.

**Tabela 1.** Distribuição da amostra de acordo com sexo, faixa etária, consumo de tabaco, álcool e IMC.

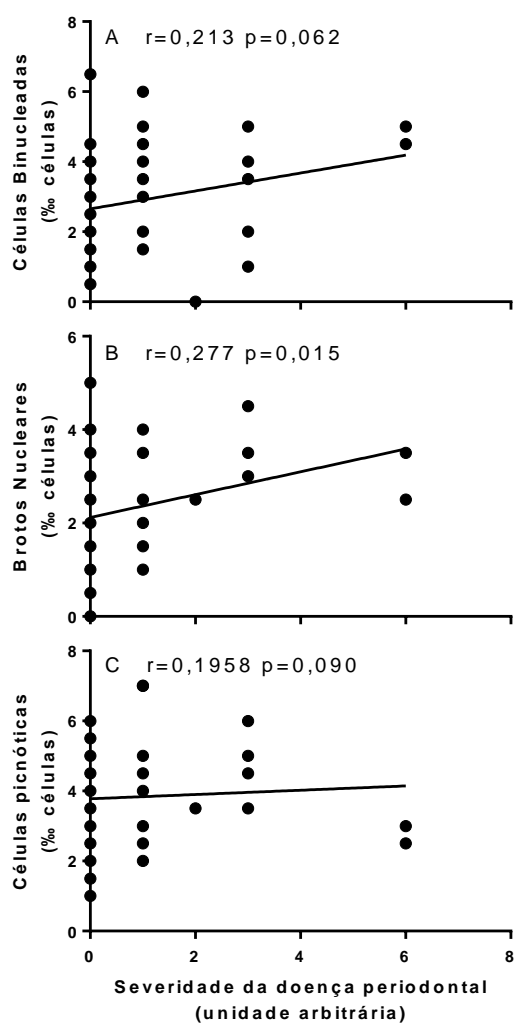
<b>Diagnóstico Periodontal</b>				
	<b>Saúde Periodontal</b>	<b>Periodontite Moderada</b>	<b>Periodontite Severa</b>	<b>P</b>
<b>n (77)</b>	26 (33%)	26 (33%)	25 (32%)	
<b>Sexo</b>				0,57
<b>Masculino</b>	10 (27%)	13 (36%)	13 (36%)	
<b>Feminino</b>	16 (39%)	13 (31%)	12 (29%)	
<b>Faixa etária</b>				0,55
<b>40-49</b>	10 (37%)	11 (40%)	6 (22%)	
<b>50-59</b>	13 (34%)	10 (26%)	15 (39%)	
<b>60-70</b>	3 (25%)	5 (41%)	4 (33%)	
<b>Fumo</b>				0,53
<b>Não</b>	23 (36%)	20 (31%)	20(31%)	
<b>Sim</b>	3 (21%)	6 (42%)	5 (35%)	
<b>Álcool</b>				0,07
<b>Não consome</b>	25 (36%)	20 (29%)	23 (33%)	
<b>Consome</b>	1 (11%)	6 (66%)	2 (22%)	
<b>IMC</b>				0,35
<b>Baixo Peso</b>	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	
<b>Eutrófico</b>	13 (44%)	10 (34%)	6 (20%)	
<b>Sobrepeso, Obesidade</b>	13 (28%)	15 (32%)	18 (39%)	



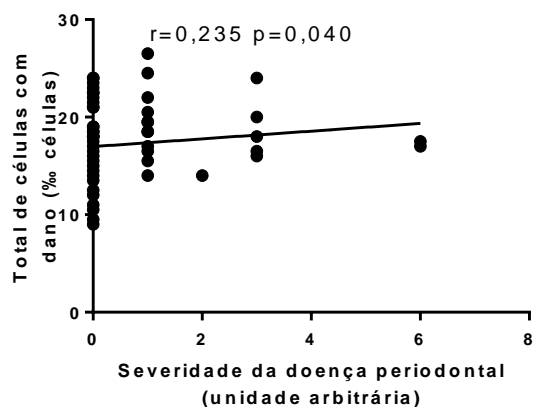
**Figura 1.** Relação entre a frequência de células binucleadas (a) e brotos nucleares (b) entre os grupos. p: nível de significância de acordo com o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn. \*S: diferença significativa entre grupos periodontite severa e saúde; \*M: diferença significativa entre os grupos periodontite severa e periodontite moderada.

**Tabela 2.** Média, desvio padrão e mediana das células binucleadas, brotos nucleares, micronúcleos, células picnóticas, cariolíticas e células cariorréticas nos diferentes grupos. p: nível de significância de acordo com o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

Tipo de Dano	Saúde Periodontal	Periodontite Moderada	Periodontite Severa	P
	Média±Desvio Padrão Mediana(P25-P75)			
Células binucleadas	2,46±1,24 2,25(2,00-3,00)	2,73±1,23 2,50(2,00-3,50)	3,22±1,44 3,00(2,00-4,50)	0,023
Broto nucleares	2,13±1,09 2,00(1,50-3,00)	1,98±0,93 2,00(1,50-2,50)	2,68±0,88 2,50(2,00-3,50)	0,024
Micronúcleos	2,52±1,05 2,00(2,00-3,50)	2,54±1,07 2,75(1,50-3,00)	2,28±0,71 2,00(2,00-2,50)	0,785
Células picnóticas	3,58±1,21 3,50(2,50-4,50)	3,73±1,31 3,75(2,50-4,50)	4,14±1,43 4,00(3,50-5,00)	0,299
Células cariolíticas	3,23±1,42 3,00(2,00-4,50)	3,65±1,27 4,00(2,50-4,50)	3,48±1,56 3,50(2,50-4,00)	0,514
Células cariorréticas	2,15±1,05 2,00(1,50-3,00)	2,31±1,26 2,00(1,50-3,00)	2,40±0,78 2,00(2,00-3,00)	0,685



**Figura 2.** Correlação entre a severidade da doença periodontal e frequência de células binucleadas (A), brotos nucleares (B) e células picnótica (C). r e p: coeficiente de correlação e nível de significância de acordo com o teste de Spearman.



**Figura 3.** Correlação entre a severidade da doença periodontal e o total de células com dano. r e p: coeficiente de correlação e nível de significância de acordo com o teste de Spearman.

**CAPÍTULO IV**  
**NOTA À IMPRENSA**



## NOTA À IMPRENSA

Pesquisadores da Universidade de Santa Cruz do Sul, do Programa de Pós-graduação em Promoção da Saúde, realizaram um estudo e verificaram que a periodontite (doença na gengiva), bastante frequente na população, esta associada a lesões no material genético (DNA), que, por sua vez, contribuem para o desenvolvimento do câncer.

A mestrandia Tatiana Thier de Borba, sob orientação da Dra. Silvia Isabel Rech Franke e co-orientação do Dr. Daniel Prá, liderou a pesquisa ao lado de uma equipe interdisciplinar, composta por odontólogos, nutricionistas, biólogo e acadêmicas do curso de nutrição. Os pesquisadores, além de avaliar a frequência de danos nas células, também pesquisaram, se características do estilo de vida, tais como fumo e álcool, assim como fatores sociodemográficos (renda e escolaridade) e o estado nutricional, através do índice de massa corporal, estariam correlacionados à presença ou não de periodontite e também com a sua severidade.

Pode-se verificar que o status socioeconômico mais baixo dos indivíduos foi fortemente associado a presença de doença periodontal. Além disso, os achados do presente estudo indicaram que o processo inflamatório que ocorre na periodontite, de acordo com a severidade da doença, gerou danos ao DNA, o que foi verificado pelo aumento significativo de lesões nas células do grupo periodontite severa quando comparado com o grupo periodontite moderada. Portanto, deve-se prevenir e tratar o mais cedo possível a periodontite.

**CAPÍTULO V**  
**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo avaliou se a frequência de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares em células da mucosa oral foi diferente entre pacientes saudáveis e com doença periodontal. Além disso, investigou se características do estilo de vida, fatores sociodemográficos e o estado nutricional estariam correlacionados à presença ou não de periodontite, bem como com a sua severidade e pode-se concluir que houve diferença significativa na porcentagem de células binucleadas, o que entende-se por defeito de citocinese, entre os grupos saúde e doença periodontal crônica severa. Com relação a porcentagem de brotos nucleares, também foi encontrada diferença significativa nas células dos sujeitos com periodontite crônica severa quando comparadas com as da forma moderada e, portanto, a ocorrência de dano ao DNA aumentou com a severidade da periodontite. Além disso, o status socioeconômico mais baixo dos indivíduos foi fortemente associado a presença de doença periodontal.

## **ANEXOS**

## ANEXO I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

PROJETO: FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS COMO MARCADOR DA ESTABILIDADE GENÔMICA EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL: associação com características do estilo de vida e nível socioeconômico.

Doenças na gengiva (periodontites) são bastante frequentes na população e podem acarretar lesões no material genético (DNA). Estas, por sua vez, contribuem para o desenvolvimento do câncer. Sendo assim, justifica-se a importância de investigar se a periodontite pode levar a formação de dano genético através de uma técnica bastante utilizada e chamada teste de micronúcleos.

A pesquisa de micronúcleos nas células orais é minimamente invasiva e bastante promissora na monitorização de populações expostas a agentes causadores de danos ao DNA como a doença periodontal. Portanto, o objetivo desta pesquisa será avaliar se existem diferenças na frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal de pacientes saudáveis e com periodontite. Será necessária a realização de um exame bucal com sonda periodontal e uma coleta de células da parte interna da bochecha, o que será feito através de uma raspagem com uma pequena escova. Também será feito um questionário, pré-aprovado pelo comitê de ética, onde perguntaremos dados sobre você, sua idade, endereço, raça, estado civil, história médica de doenças e uso de medicações, seus hábitos (fumo e álcool), renda, escolaridade, peso e altura.

É importante ressaltar que os riscos para a sua saúde são mínimos, havendo apenas a possibilidade de ocorrer um leve desconforto e/ou sangramento momentâneo durante o exame de sua gengiva, além de bacteremia transitória que também ocorre durante a sua escovação. A realização do questionário, assim como a coleta dos dados transcorrerá em aproximadamente uma hora e não irá alterar a sua rotina. Esta pesquisa salientará a importância da identificação de alterações bucais e sua correlação com doenças sistêmicas. Se o senhor (a) tiver diagnosticada a doença periodontal, será encaminhado para tratamento na Clínica de Periodontia do Curso de Odontologia da UNISC, para que receba uma terapia adequada. Sua participação poderá melhorar o nosso entendimento em relação ao processo saúde-doença, proporcionando esclarecimentos para futuras investigações sobre a carcinogênese. Os resultados dos questionários e exames realizados no senhor (a) estarão à sua disposição junto à ficha clínica do Curso de Odontologia, para que possam ser utilizados, quando necessário, em futuros atendimentos pelos alunos do curso de odontologia. Além disso, os resultados relevantes da presente pesquisa serão informados à comunidade através de nota em jornal local. A sua privacidade será respeitada e as informações somente serão divulgadas de forma anônima. Além disso, serão mantidas na sala de estudos, dentro de um armário destinado para arquivar dados desta pesquisa por um período de cinco anos, sob minha responsabilidade e de meus colaboradores. Após este período, os dados serão destruídos bem como as folhas dos questionários.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que autorizo a minha participação neste projeto de pesquisa, pois Eu \_\_\_\_\_, fui informada (o) dos objetivos da pesquisa, de maneira clara e detalhada. A pesquisadora informou-me que todos os dados desta pesquisa, sobre frequência de micronúcleos em pacientes do Curso de Odontologia, serão confidenciais, bem como o estilo de minha vida não será modificado em razão desta pesquisa, e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, se assim desejar, em face destas informações.



**ANEXO II – QUESTIONÁRIO AUTORREFERIDO**

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: Rua: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

Telefone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

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

Raça: \_\_\_\_\_

Sexo: Masculino ( ) Feminino ( )

História médica pregressa:

- Apresenta alguma doença crônica?

Artrite reumatoide: ( ) sim ( ) não

Diabete mellitus: ( ) sim ( ) não

Doença no fígado: ( ) sim ( ) não

Faz uso de medicações contínuas: Quais? \_\_\_\_\_

Hábitos:

Fuma? ( ) sim ( ) não

Consome bebida alcóolica mais de duas vezes por semana? ( ) sim ( ) não

Que tipo de bebida? Fermentada: ( ) sim ( ) não

Destilada: ( ) sim ( ) não

Qual sua altura? \_\_\_\_\_m<sup>2</sup>

Qual seu peso? \_\_\_\_\_kg

## ANEXO III – QUESTIONÁRIO ABEP

### CrITÉrios de ClassificaÇão EconÔmica Brasil

#### SISTEMA DE PONTOS

#### Variáveis

	Quantidade				
	0	1	2	3	4 ou
Banheiros	0	3	7	10	14
Empregados domÉsticos	0	3	7	10	13
AutomÓveis	0	3	5	8	11
Microcomputador	0	3	6	8	11
Lava louca	0	3	6	6	6
Geladeira	0	2	3	5	5
Freezer	0	2	4	6	6
Lava roupa	0	2	4	6	6
DVD	0	1	3	4	6
Micro-ondas	0	2	4	4	4
Motocicleta	0	1	3	3	3
Secadora roupa	0	2	2	2	2

#### Grau de instruÇão do chefe de família e acesso a serviÇos pÚblicos

Escolaridade da pessoa de referênciA		
Analfabeto / Fundamental I incompleto	0	
Fundamental I completo / Fundamental II incompleto	1	
Fundamental II completo / MÉdio incompleto	2	
MÉdio completo / Superior incompleto	4	
Superior completo	7	
ServiÇos pÚblicos		
	Não	
	Sim	
Água encanada	0	4
Rua pavimentada	0	2

ABEP 2014. Associação Brasileira de empresas de pesquisa. Disponível em <www.abep.org> Acesso em: 28 de julho de 2015.



**ANEXO IV – Autorização da Coordenadora do Curso de Odontologia**

Santa Cruz do Sul, 15 de setembro de 2015

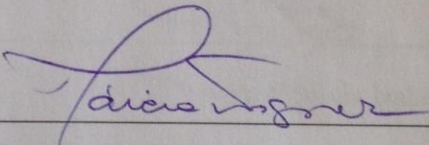
Ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UNISC)

Prezados Senhores,

Declaro para os devidos fins conhecer o protocolo de pesquisa intitulado: “Frequência de micronúcleos como marcador da estabilidade genômica em indivíduos com doença periodontal: associação com características do estilo de vida e nível socioeconômico”, desenvolvido pelo(a) acadêmico(a) Tatiana Thier de Borba do Programa de Pós-Graduação, Mestrado em Promoção De Saúde, da Universidade de Santa Cruz do Sul-UNISC, sob a orientação do(a) professor(a) Silvia Isabel Rech Franke, bem como os objetivos e a metodologia de pesquisa e autorizamos o desenvolvimento no Curso de Odontologia, da Universidade de Santa Cruz do Sul -UNISC

Informamos concordar com o parecer ético que será emitido pelo CEP/UNISC, conhecer e cumprir com a Resolução do CNS 466/12 e demais Resoluções Éticas Brasileiras. Esta instituição está ciente das suas corresponsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de pesquisa e no seu compromisso do resguardo da segurança e bem estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária.

Atenciosamente,



Profª Márcia Wagner

Coordenadora do Curso de Odontologia da UNISC

**Profª. Dra. Márcia Helena Wagner**  
Coordenadora do Curso de Odontologia

**ANEXO V – Autorização do Laboratório de Nutrição Experimental**

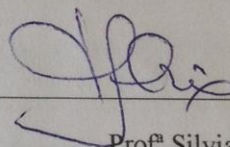
Santa Cruz do Sul, 15 de setembro de 2015

Ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNISC

Prezados Senhores:

Eu, Silvia Isabel Rech Franke, coordenadora do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade de Santa Cruz do Sul, conheço o protocolo de Pesquisa “FREQUÊNCIA DE MICRÔNÚCLEOS COMO MARCADOR DA ESTABILIDADE GENÔMICA EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL: ASSOCIAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS DO ESTILO DE VIDA E NÍVEL SOCIOECONÔMICO” desenvolvido pela pesquisadora Tatiana Thier de Borba e autorizo a realização do Teste de micronúcleos, neste Laboratório.

Atenciosamente,



Profª Silvia Isabel Rech Franke

Coordenadora do Laboratório de Nutrição Experimental

**Profª. Drª. Silvia Isabel Rech Franke**  
**Lab de Nutrição Experimental UNISC**

## ANEXO VI - ORÇAMENTO/ RECURSOS MATERIAIS

### ORÇAMENTO/ RECURSOS MATERIAIS

**Título da Pesquisa:** Frequência de micronúcleos como marcador da estabilidade genômica em indivíduos com doença periodontal: associação com características do estilo de vida e nível socioeconômico.

**Gestor Financeiro:** PPG Mestrado em Promoção da Saúde, Pesquisador.

Itens a serem financiados	Quantidade	Valor unitário	Valor total	Fonte viabilizadora
Material de escritório (folhas, impressão, cartucho de impressora)	1000	R\$ 0,20	R\$ 100,00	Pesquisadora
Material para exame periodontal: - sonda periodontal; - rolete de algodão; - luvas descartáveis; - sugador de saliva; - EPI;	10 3 pacotes 1 caixa 1 pacote 2 unidades	R\$ 30,00 R\$ 2,00 R\$ 18,00 R\$ 4,00 R\$ 2,50	R\$ 300,00 R\$ 6,00 R\$ 18,00 R\$ 4,00 R\$ 5,00	Pesquisadora
Material para citoma de micronúcleos em mucosa oral (Cytobrush, metanol, etc.)	75	R\$ 30,60	R\$ 2.295,00	Pesquisadora
Valor total geral: R\$ 2.728,00				

*Tatiana Thier de Borba*  
Pesquisadora

*Dra. Tatiana Thier de Borba*  
Cirurgiã-Dentista  
CRO 15288

1. Instituição vinculada a área da saúde R\$ \_\_\_\_\_ Ass. Direção Instituição \_\_\_\_\_
2. Patrocinador R\$ \_\_\_\_\_ Anexar comprovante com cronograma
3. Agência de Fomento R\$ \_\_\_\_\_ Anexar comprovante Agência de Fomento
4. Prestação de Serviço R\$ \_\_\_\_\_ Ass. Chefe do Departamento \_\_\_\_\_
5. Pesquisador R\$ \_\_\_\_\_ Ass. Pesquisador \_\_\_\_\_
6. Desnecessária (Estudo Retrospectivo)

## ANEXO VII - Instrução para autores – Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção

### Diretrizes para Autores

O envio do artigo poderá ser em **português, inglês ou espanhol** e poderão ser aceitos a critério do Conselho Editorial. Os autores têm a responsabilidade de declarar conflitos de interesse financeiros e outros, bem como agradecer todo o apoio financeiro ao estudo. Após a aprovação da versão final do manuscrito será solicitado aos autores a versão em inglês, caso haja interesse em publicação em língua inglesa.

A Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção não aplica taxas de submissão, publicação ou de qualquer outra natureza em seus processos, sendo um veículo científico voltado à comunidade científica.

Recomenda-se ao autor que antes de submeter seu artigo utilize o "checklist" correspondente:

- CONSORT checklist e fluxograma para ensaios controlados e randomizados.
- STARD checklist e fluxograma para estudos de acurácia diagnóstica.
- MOOSE checklist e fluxograma para meta-análise.
- PRISMA checklist e fluxograma para revisões sistemáticas.
- STROBE checklist para estudos observacionais em epidemiologia.
- RATS checklist para estudos qualitativos.
- **Formato dos manuscritos:**
  - **1. Folha de rosto (enviar arquivo separado do manuscrito)**
    - **Título:** O título do artigo deve ser curto, claro e conciso para facilitar sua classificação. Deve ser enviado em português e inglês.
    - **Autor(es):** O(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es), afiliação de cada autor. Do autor correspondente solicita-se endereço, fone e e-mail.  
Ex.: Joana da Silva<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Saúde Coletiva, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS, Brasil
  - **2. Itens do Texto completo**
    - **Título**  
O título do artigo deve ser curto, claro e conciso para facilitar sua classificação. Deve ser enviado em português e inglês.
    - **Resumo**  
Artigos originais: Deverão conter no máximo 250 palavras e elaborado de **forma estruturada** com as seguintes seções: Justificativa e Objetivos, Métodos, Resultados e Conclusão.  
Artigos de revisão: Deverá conter no máximo 250 palavras. Destacando Justificativa e Objetivos, Conteúdo e Conclusão.
    - **Descritores (Palavras-chave)**  
Para todos os artigos, indicar de **três a cinco** Descritores. Recomenda-se a seleção dos descritores a partir do **DeCS** (Descritores em Ciência da Saúde da Bireme), disponível em <http://decs.bvs.br/>. Os DeCS foram criados para padronizar uma linguagem única de indexação e recuperação de documentos científicos.
    - **Abstract**  
Artigos originais: **Versão fidedigna do Resumo**, em inglês, com no máximo 250 palavras e elaborado de forma estruturada com as seguintes seções: Background and Objectives,

Methods, Results e Conclusion.

Artigos de revisão: **Versão fidedigna do Resumo**, em inglês, com no máximo 250 palavras. Destacando as seguintes seções: Background and Objectives, Contents e Conclusion.

#### Keywords

Para todos os artigos, indicar de **três a cinco** Keywords, com a versão em inglês dos Descritores usados no Resumo, recomenda-se a utilização do **DeCS** – Descritores em Ciência da Saúde da Bireme, disponível em <http://decs.bvs.br/>.

#### Texto

ARTIGOS ORIGINAIS: deverão ser divididos em Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências. A informação referente ao nº do processo do Comitê ou Comissão de Ética da Instituição deverá constar nos Métodos. Deverão ter no máximo 4.000 palavras. Artigos originais deverão ainda conter no mínimo 10 e no máximo 25 referências. Poderão ser apresentadas no máximo 5 figuras e/ou tabelas que devem estar apresentadas no meio do texto.

ARTIGOS DE REVISÃO: deverão ser divididos em Introdução, Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos e Referências. Os artigos de revisão deverão ter no mínimo 30 e no máximo 40 referências atuais, dos últimos 5 anos.

As COMUNICAÇÕES BREVES, RELATOS DE EXPERIÊNCIA, NOTÍCIAS E CARTAS AO EDITOR deverão ter no máximo 900 palavras e 10 referências.

As IMAGENS DESTAQUE e QUAL O SEU DIAGNÓSTICO? deverão ter no máximo 500 palavras, duas figuras, e no máximo 10 referências.

#### Referências:

A RECI adota as “Normas de Vancouver”, disponível em <http://www.icmje.org>, como referência para aveiculação de seus trabalhos, para as abreviações de revistas buscar no Index Medicus/MedLine.

**É INDISPENSÁVEL QUE PELO MENOS 40% DAS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS SEJAM INTERNACIONAIS PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS 5 ANOS.**

#### DOI - Digital Object Identifier

É um padrão para identificação de documentos em redes de computadores, como a Internet. Este identificador, composto de números e letras, é atribuído ao objeto digital para que este seja unicamente identificado na Internet. Utiliza o padrão ISO (ISO 26324). O sistema DOI fornece uma infra-estrutura técnica e social para o registro e uso de identificadores persistentes interoperáveis, chamado DOIs, para uso em redes digitais.

**O AUTOR TEM A RESPONSABILIDADE DE INFORMAR NAS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS O DOI DE TODAS AS REFERÊNCIAS QUE O APRESENTAREM.**

Ex.: Almeida MF, Facchini LA, Portela LE. EDITORIAL. Rev Bras Epidemiol. [Internet]. 2012 Dec [cited 2015 May 07] ; 15 (4): 691-693. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2012000400001>.

As referências devem ser dispostas no texto em **ordem sequencial numérica, sendo obrigatória a sua citação, sobrescrita e sem parêntesis sempre no final do devido parágrafo após o ponto final**, separados entre si por vírgulas; em caso de números

sequenciais de referências, separá-los por um hífen, enumerando apenas a primeira e a última referência do intervalo sequencial de citação (exemplo: <sup>7,10-16</sup>). Evitar a citação do nome do autor em destaque no texto.

As referências deverão ser listadas segundo a ordem de citação no texto; em cada referência, deve-se listar até os três primeiros autores, seguidos da expressão et al. para os demais. Não se recomenda a citação de trabalho não publicado ou apresentado em eventos científicos. Referências com mais de cinco anos, de livros texto e resumo de congressos, devem limitar-se às que são fundamentais. Incluir referências acessíveis aos leitores. Quando a citação for de artigo já aceito para publicação, incluir “em processo de publicação”, indicando a revista e o ano. Comunicações pessoais não são aceitas.

**A EXATIDÃO DAS REFERÊNCIAS CONSTANTES NA LISTAGEM E A CORRETA CITAÇÃO NO TEXTO SÃO DE EXCLUSIVA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES.**

Observe alguns exemplos:

*Artigos de periódicos*

1. Posma DM, Bill D, Parker RJ, et al. Cardiac pace makers: current and future status. *Curr Probl Cardiol*1999;24(2):341-420.

2. Maron KJ, Proud I, Krev B. Hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Intern Med* 1996;124(4):980-3.

*Volume com suplemento*

3. Geerts WH, Pineo GF, Heit JA, et al. Prevention of venous thromboembolism: the Seventh ACCP Conference. *Chest* 2004;126(Suppl 3):338S-40.

*Número com suplemento*

4. Malta DC, Leal MC, Costa MFL, Morais Neto OL. Inquéritos nacionais de saúde: experiência acumulada e proposta para o inquérito de saúde brasileiro. *Rev Bras Epidemiol* 2008 mai 11(2 Supl 1):159-67.

*Em fase de impressão*

5. Freitas LRS, Garcia LP. Evolução da prevalência do diabetes e diabetes associado à hipertensão arterial no Brasil: análise das pesquisas nacionais por amostra de domicílios, 1998, 2003 e 2008. *Epidemiol Serv Saude* No prelo 2012.

*Livros*

6. Doyle AC, (editor). *Biological mysteries solved*, 2nd ed. London: Science Press; 1991. p. 5-9.

*Autoria institucional*

7. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância epidemiológica. 7. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

8. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral (Mato Grosso). Informativo populacional e econômico de Mato Grosso: 2008. Cuiabá: Secretaria de Estado de

Planejamento e Coordenação Geral; 2008.

### *Capítulos de livros*

- Quando o autor do capítulo não é o mesmo do livro.
9. Lachmann B, van Daal GJ. Adult respiratory distress syndrome: animal models, In: Robertson B, van GoldeLMG, (editors). Pulmonary surfactant. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 1992. p. 635-63
- Quando o autor do livro é o mesmo do capítulo.
10. Löwy I. Vírus, mosquitos e modernidade: a febre amarela no Brasil entre ciência e política. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2006. Capítulo 5, Estilos de controle: mosquitos, vírus e humanos; p. 249-315.

### *Anais de congresso*

- Publicados em livros
11. Samad SA, Silva EMK. Perdas de vacinas: razões e prevalência em quatro unidades federadas do Brasil. In: Anais da 11ª Expoepi: Mostra Nacional de Experiências Bem-Sucedidas em Epidemiologia, Prevenção e Controle de Doenças; 2011 31 out - 3 nov; Brasília, Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. p. 142.
- Publicados em periódicos
12. Oliveira DMC, Montoni V. Situação epidemiológica da leishmaniose visceral no Estado de Alagoas – 2002. In: 19ª Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas; 7ª Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses. 2003 out 24-26; Uberaba. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2003. p. 21-2. (Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, vol. 36, supl. 2).

### *Portarias e Leis*

13. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 116, de 11 de fevereiro de 2009. Regulamenta a coleta de dados, fluxo e periodicidade de envio das informações sobre óbitos e nascidos vivos para os Sistemas de Informações em Saúde sob gestão da Secretaria de Vigilância em Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília (DF), 2009 fev 12; Seção 1:37.
14. Brasil. Casa Civil. Lei nº 9.431, de 6 de janeiro de 1997. Decreta a obrigatoriedade do Programa de Controle de Infecção Hospitalar em todos os hospitais brasileiros. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília (DF), 1997 jan 7; Seção 1:165.

### *Documentos eletrônicos*

15. Rede Interagencial de Informação para a Saúde. Indicadores básicos para a saúde no Brasil: conceitos e aplicações [Internet]. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde; 2008 [citado 2012 fev 5]. 349 p. Disponível em:<http://tabnet.datasus.gov.br/tabdata/livroidb/2ed/indicadores.pdf>
16. Malta DC, Morais Neto OL, Silva Junior JB. Apresentação do plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil, 2011 a 2022. Epidemiol Serv Saude [Internet]. 2011 dez [citado 2012 fev 6]; 20(4):93-107. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/ess/v20n4/v20n4a02.pdf>.
17. Almeida MF, Facchini LA, Portela LE. EDITORIAL. Rev Bras Epidemiol. [Internet].

2012 Dec [cited 2015 May 07] ; 15 (4): 691-693.<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2012000400001>.

#### *Teses e dissertações*

18. Waldman EA. Vigilância epidemiológica como prática de saúde pública [tese]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 1991.

19. Daufenbach LZ. Morbidade hospitalar por causas relacionadas à influenza em idosos no Brasil, 1992 a 2006: situação atual, tendências e impacto da vacinação [dissertação]. Salvador (BA): Universidade Federal da Bahia; 2008.

#### *Artigo com errata publicado:*

20. Síndrome compartimental abdominal. Rev Bras Clin Med 2009;7(5):313-321. [errata em: RevBrasClinMed2009;7(6):360].

#### *Tabelas e figuras:*

É obrigatória a sua citação no texto. Enumerar em ordem sequencial numérica gráficos, figuras, tabelas e quadros em algarismos arábicos. Deverão conter título e legenda resumidos, no caso de figuras a legenda é embaixo. Tabelas, gráficos e quadros são titulados em cima. Usar fotos coloridas sempre que possível. O mesmo resultado não deve ser expresso por mais de uma ilustração. Sinais gráficos e siglas utilizados nas tabelas ou gráficos devem ter sua correlação mencionada no rodapé. A qualidade das figuras e gráficos é de responsabilidade dos autores.

#### *Uso de recursos digitais:*

Texto em formato DOC (padrão Winword); gráficos em barras ou linhas deverão ser encaminhados em formato DOC, fotos ou outras figuras deverão ser digitalizadas com resolução mínima de 300 DPI, em formato DOC. Todos os gráficos e as figuras deverão, obrigatoriamente, estar no corpo do texto. Títulos e legendas das ilustrações, devidamente numerados, devem estar no arquivo de texto. Cópias ou reproduções de outras publicações serão permitidas apenas mediante a anexação de autorização expressa da editora ou do autor do artigo de origem.

#### *Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE):*

Os pacientes têm direito à privacidade que não deve ser infringida, sem consentimento livre e esclarecido. A identificação de informação, incluindo iniciais dos nomes dos pacientes, número de registro do hospital, não deve ser publicada através de descrições no texto, fotografias ou qualquer outra modalidade, a menos que ela seja essencial para os propósitos científicos e o paciente (ou responsável) forneça o TCLE por escrito para publicação. O TCLE para esta finalidade exige que o paciente veja o manuscrito que será publicado.

#### *Considerações Éticas*

Ao relatar experimentos com seres humanos, indique se os procedimentos seguidos estão de acordo com os padrões éticos do Comitê responsável pela experimentação humana (institucional ou regional) e com as recomendações da resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/2012. O autor tem a responsabilidade de incluir, como documento suplementar, o parecer do comitê de ética reconhecido pelo CNS – Conselho Nacional de Saúde - para estudos de experimentação humana e animal;



*Registro de ensaio clínico:*

Ensaio clínico deverão ser registrados de acordo com orientação da Organização Mundial de Saúde (OMS) no endereço [www.who.int/ictrp/en/](http://www.who.int/ictrp/en/). A OMS considera ensaios clínicos inclusive ensaios preliminares (fase I), qualquer estudo que recrute prospectivamente sujeitos de pesquisa para serem submetidos a intervenções relacionadas à saúde (fármacos, procedimentos cirúrgicos, aparelhos, tratamentos comportamentais, dietas, modificações nos cuidados de saúde) com finalidade de avaliar os efeitos sobre desfechos clínicos (qualquer variável biomédica ou relacionada à saúde, inclusive medidas farmacocinéticas e efeitos adversos). A RECI tem o direito de não publicar estudos clínicos que não estejam de acordo com estes e outros padrões éticos determinados por diretrizes internacionais.

*Uso de Siglas:*

Siglas ou acrônimos com até três letras deverão ser escritos com maiúsculas (Ex: DOU; USP; OIT). Em sua primeira aparição no texto, acrônimos desconhecidos serão escritos por extenso, acompanhados da sigla entre parênteses. Siglas e abreviaturas compostas apenas por consoantes serão escritas em letras maiúsculas. **Siglas com quatro letras ou mais serão escritas em maiúsculas se cada uma delas for pronunciada separadamente (Ex: BNDES; INSS; IBGE).** **Siglas com quatro letras ou mais e que formarem uma palavra, ou seja, que incluam vogais e consoantes, serão escritas apenas com a inicial maiúscula (Ex: Funasa; Datasus; Sinan).** **Siglas que incluam letras maiúsculas e minúsculas originalmente serão escritas como foram criadas (Ex: CNPq; UnB).** Para siglas estrangeiras, recomenda-se a correspondente tradução em português, se for largamente aceita; ou o uso da forma original destaca em itálico, se não houver correspondência em português, ainda que o nome por extenso – em português – não corresponda à sigla. (Ex: OMS = Organização Mundial da Saúde; UNESCO = Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura; MRPII = Manufacturing Resource Planning). Algumas siglas, popularizadas pelos meios de comunicação, assumiram um sentido próprio; é o caso de AIDS = síndrome da imunodeficiência adquirida, sobre a qual o Ministério da Saúde decidiu recomendar que seus documentos a reproduzam como se tratasse de nome de doença, ‘**aids**’, **em letras minúsculas** portanto. (Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Manual de editoração e produção visual da Fundação Nacional de Saúde. Brasília: Funasa, 2004. 272p.)

**ANÁLISE E ACEITAÇÃO DOS MANUSCRITOS**

1º Os manuscritos são submetidos exclusivamente pelo cadastro no site:

<http://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/index>.

Todos os autores e afiliações devem ser corretamente identificados no sistema no momento da submissão.

Após a submissão no sistema da RECI o manuscrito passa por uma primeira revisão e estará sujeito a pequenas correções ou modificações de padronização editorial, que não alterem o estilo do autor. Quando necessárias alterações, o manuscrito é encaminhado para o autor para as devidas alterações. Realizadas as alterações ele deverá ser enviado novamente pelo sistema, caso contrário, será finalizado o processo de submissão e o manuscrito será arquivado. Quando não aceitos, os artigos serão devolvidos com a justificativa do editor.

2º Se aprovado sem necessidade de correções ou após o envio com as alterações o artigo é encaminhado para avaliação por pares. Caso o avaliador solicite alterações, será enviado ao autor um relatório com considerações para correção. Os autores deverão providenciar todas as informações e correções solicitadas, que devem estar marcadas no texto, utilizando cores diferentes ou sistemas eletrônicos de marcação de alterações, de maneira que essas modificações fiquem evidentes.

3º A versão corrigida passa por uma nova avaliação pelo conselho editorial, onde podem ser

necessárias novas adequações. Se o artigo não precisar de alterações dos avaliadores, é comunicado o aceite e enviado para edição de texto. Após o envio por parte do autor seu manuscrito corrigido, o mesmo será inserido no sistema constando como “artigo no prelo”.

**4º** Na próxima etapa o autor receberá o artigo para conferir as alterações feitas após edição de texto do editor, será o último momento para maiores correções. O prazo para avaliação da edição de texto do editor é de 5 dias.

**5º** Após a correção da edição de texto o artigo será encaminhado para a seção de Layout e voltará para o autor realizar a leitura de provas, neste momento somente é possível registrar erros tipográficos e de layout. Nessa etapa serão solicitadas as Declarações de Originalidade, de Responsabilidade e de Transferência de Direitos Autorais.

**6º** Após a leitura de provas e devidos ajustes o artigo em sua versão final é publicado na revista.

### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, justificar em "Comentários ao Editor".
2. Os arquivos para submissão estão em formato .doc (desde que não ultrapasse os 10MB).
3. Todos os endereços de páginas na Internet (URLs), incluídas no texto (Ex.: <http://www.ibict.br>) estão ativos e prontos para clicar.
4. O texto está com espaçamento simples no resumo e 1,5 no corpo do trabalho; usa uma fonte de 12-pontos; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção “Sobre” no site da revista [RECI/submissions#authorGuidelines](http://RECI/submissions#authorGuidelines)>Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.
6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação cega por Pares](#).
7. Os metadados deverão ser incluídos corretamente no sistema. Não havendo pendências em relação ao autor da submissão e aos demais colaboradores.
8. O autor tem a responsabilidade de incluir, como documento suplementar, o parecer do comitê de ética reconhecido pelo CNS – Conselho Nacional de Saúde - para estudos de experimentação humana e animal.

### Declaração de Direito Autoral

A submissão de originais para este periódico implica na transferência, pelos autores, dos direitos de publicação impressa e digital. Os direitos autorais para os artigos publicados são do autor, com direitos do periódico sobre a primeira publicação. Os autores somente poderão utilizar os mesmos resultados em outras publicações indicando claramente este periódico

como o meio da publicação original. Em virtude de sermos um periódico de acesso aberto, permite-se o uso gratuito dos artigos em aplicações educacionais e científicas desde que citada a fonte conforme a licença CC-BY da Creative Commons.

## **ANEXO VIII - Instrução para autores – Journal of Periodontology**

### **Updated April 2015**

This update includes a general reorganization of the author guidelines as well as improved navigation. Other changes include online-only publication, conflict of interest form collection, and updates to clinical trial registration requirements.

The Journal of Periodontology publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

The Journal of Periodontology accepts manuscript submissions online at ScholarOne Manuscripts. To start a new submission, enter the Author Center and click "Click here to submit a new manuscript." Details regarding each submission step are located at the top of the page in ScholarOne Manuscripts. Authors should prepare manuscripts in accordance with the instructions below. Failure to do so may result in delays or manuscript unsubmission.

### **MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS**

Submissions to the Journal of Periodontology should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under General Format and Style. All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the Journal of Periodontology.

### **ORIGINAL ARTICLES**

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

**Format**

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

**Abstract**

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- **Background:** Describes the problem being addressed.
- **Methods:** Describes how the study was performed.
- **Results:** Describes the primary results.
- **Conclusion(s):** Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

**Introduction**

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

**Materials and Methods**

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

**Results**

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and supplemental material as appropriate.

**Discussion**

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous

findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

### **Publication of Accepted Original Articles**

Please note that accepted manuscripts which are classified by the Editors as "Discovery Science" will be placed on an accelerated schedule for **online-only publication**. See Online-Only Publication below.

### **REVIEW ARTICLES**

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. Authors should discuss clinical relevance and the impact on future understanding and practice. The review should be based on a critical assessment of the literature and should use the format and methods of a "systematic review." Detailed descriptions of the systematic review methodology are available in the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions.<sup>1</sup> There are many excellent published examples of systematic reviews, including "Periodontal Disease and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-Analysis" by Humphrey et al.<sup>2</sup>

Authors of systematic reviews that include a meta-analysis should refer to the QUOROM statement.<sup>3</sup> Authors of systematic reviews without meta-analysis should refer to the papers by Cook et al.<sup>4</sup> and Mulrow et al.<sup>5</sup>

1. Higgins JPT, Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions [serial on the Internet]. September 2008; version 5.0.1. Available at: [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org).
2. Humphrey L, Fu R, Buckley D, Freeman M, Helfand M. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: A systematic review and meta-analysis. *J Gen Intern Med* 2008;23:2079-2086.
3. Moher D, Cook D, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup D. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomized controlled trials: The QUOROM statement. *Lancet* 1999;354:1896-1900.

4. Cook D, Mulrow C, Haynes R. Systematic reviews: Synthesis of best evidence for clinical decisions. *Ann Intern Med* 1997;126:376-380.
5. Mulrow C, Langhorne P, Grimshaw J. Integrating heterogeneous pieces of evidence in systematic reviews. *Ann Intern Med* 1997;127:989-995.

### **Format**

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less.

Systematic review articles should: define a clear and clinically relevant research question; retrieve and describe the limitations of previously published reviews on this topic; and justify the need for a systematic review. The review should then define the search strategy used to identify primary articles; describe the methods used to select primary studies; specify inclusion and exclusion criteria (criteria for selecting primary studies should be based on population studied, intervention or exposure, study outcomes, and study methodology); perform a blinded assessment of the quality of the selected articles; describe the reliability of this process in terms of agreement between two evaluators; account for all studies identified by the search and justify exclusions; state their conclusions; compare their conclusions to the literature and current standard of care; outline the limitations of the review; and suggest areas for future research.

Papers should be balanced, literature-based reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Tables and figures should be limited to those essential to convey the results of the review, and the total combined number of figures and tables should not exceed six. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should disclose financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

### **COMMENTARIES**

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentaries should be concise (2,000 to 3,000 words) with no more than 50 references; however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused.

**Introduction**

This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

**Body**

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated. The total combined number of figures and tables should not exceed six.

**Summary**

The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

**Acknowledgment(s)**

Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

**CASE SERIES**

**The Journal of Periodontology no longer publishes Case Reports. Authors are encouraged to submit Case Reports to Clinical Advances in Periodontics.** The Journal of Periodontology publishes selected Case Series that describe unusual case presentations, complex diagnoses, and novel approaches to treatment within the scope of practice of periodontology. These Case Series provide valuable information for clinicians and teachers in the field.

Case Series report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed Case Series may lead to hypotheses about the usefulness of new and innovative procedures, drugs,



or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.

The requirements for patient consent, privacy, and institutional approval are well defined for manuscripts describing research on human subjects. These basic requirements are described by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) in their Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (available at: [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) and are interpreted in the instructions to authors of all peer-reviewed biomedical journals, including the Journal of Periodontology.

Due to the changing ethical and legal environment around the use of patient information, the editorial team has received multiple questions about the need for subject consent from patients described in Case Series submitted for publication.

The following applies to most Case Series. It should be noted that the Editors will determine whether specific Case Series require additional approvals beyond what is described below.

### **Requirement for Ethics Board Approval**

Most Case Series are a retrospective description of clinical findings in cases or an observed course of events that document a new aspect of patient management during the normal course of clinical treatment. Since there is no hypothesis testing, no systematic data collection beyond that which is part of routine clinical practice, no data analysis, and the work has already been done, Case Series do not usually qualify as "research" requiring approval from ethical boards designed to protect humans involved in clinical research.

(U.S. Fed. definition: "RESEARCH is any systematic investigation, including research development, testing and evaluation, designed to develop or contribute to generalizable knowledge.")

Example 1: Series of private practice implant cases in patients who have been taking bisphosphonates. Authors describe the findings in each case, which are collected and reported in a table format.

Example 2: Authors collect series of private practice implant cases in patients who have or have not been taking bisphosphonates. The sample size is sufficient for data analysis, and authors analyze and report the incidence of complications.

Example 1 does not qualify as "research," but example 2 does qualify and requires ethical approval.

Please see "[Does My Case Series Need IRB Approval?](#)" for more information.

**Privacy in Case Series**

No patient identifiers should be included in Case Series. If the authors choose to include any subject identifiers, the authors must include the patient's informed written consent to publish the information.

Our policy conforms to the Uniform Requirements, which states: "Patients have a right to privacy that should not be violated without informed consent. Identifying information, including names, initials, or hospital numbers, should not be published in written descriptions, photographs, or pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that an identifiable patient be shown the manuscript to be published. Authors should disclose to these patients whether any potential identifiable material might be available via the Internet as well as in print after publication."

It should be noted that patients may have given a signed "consent to treat," but that does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript. Likewise, patient consent under government privacy rules, such as the Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) in the United States, does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript.

**Format**

Case Series must be limited to 2,000 to 3,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

**Abstract**

Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- **Background:** Describes the clinical situation being discussed.
- **Methods:** Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.
- **Results:** Describes the clinical results.
- **Conclusion(s):** Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

**Introduction**

This section should include a critical review of the pertinent literature.

**Case Description and Results**

This section describes the cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

**Discussion**

This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the cases should be emphasized in all sections.

**GUEST EDITORIALS**

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the Journal, or on other items of interest to the readership.

**LETTERS TO THE EDITOR**

Letters may comment on articles published in the Journal and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 30 days to respond to the observations.

Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management.

Letters should be brief (<1,000 words), focused on one or a few specific points or concerns, and can be signed by no more than five individuals.

Citations should be handled as standard references.

**GENERAL FORMAT**

**Manuscripts must be submitted in Microsoft Word.** Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom and all text should be double-spaced. Materials should appear in the following order:

- Title Page
- Abstract (or Introduction) and Key Words
- Text
- Footnotes
- Acknowledgment(s)
- References
- Figure Legends
- Tables

**Figures should not be embedded in the manuscript.** Please see the Journal of Periodontology [Digital Art Guidelines](#) for more information on submitting figures.

Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

## **TITLE PAGE**

The title page should contain:

1. a concise but informative title;
2. first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation, including department, for each (please use footnote symbols in the sequence \*, †, ‡, §, ||, ¶, #, \*\*, etc. to identify authors and their corresponding institutions);
3. disclaimers, if any;
4. the name and address (including fax number and e-mail) of the author responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published);
5. word count and number of figures, tables, and references in the manuscript;
6. a short running title of no more than 60 characters, including spaces;
7. a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

## **KEY WORDS**

A maximum of six key words or short phrases, drawn from [MeSH documentation](#), to facilitate indexing should be listed below the abstract.

## **ACKNOWLEDGMENT(S) AND CONFLICTS OF INTEREST**

### **Acknowledgment(s)**

Following the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

### **Conflicts of Interest**

In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the Journal of Periodontology requires that all authors declare potential competing interests relating to papers accepted for publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

1. A statement in the acknowledgments section of the manuscript that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.
2. A conflict of interest and financial disclosure form for each author. A link to this electronic form will be e-mailed to each author after manuscript submission.

Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

### **Example of Conflict of Interest Statement**

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, Massachusetts. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation. Drs. Able, Kim, and Bruce report no conflicts of interest related to this study.

### **REFERENCES**

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited.

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please search for the journal at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>.

The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited and should include the manuscript's DOI, if known. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the Journal of Periodontology's preferred reference style.

## Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Kurita-Ochiai T, Seto S, Suzuki N, et al. Butyric acid induces apoptosis in inflamed fibroblasts. *J Dent Res* 2008;87:51-55.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996;12:152-157.

## Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loë H. *Oral Health of United States Adults*. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.
8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

## Electronic Citations

**Note: DOIs are preferred for journal articles. If a DOI is not available, please provide a URL and access date.**

9. Online-only article. Rasperini G, Acunzo R, Limioli E. Decision making in gingival recession treatment: Scientific evidence and clinical experience. *Clin Adv Periodontics* 2011;1:41-52. doi:10.1902/cap.2011.100002.
10. Ahead of print. McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, et al. Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingiva. Results from a randomized, within-patient, controlled trial [published online ahead of print March 29, 2011]. *J Periodontol*; doi:10.1902/jop.2011.100671.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Periodontal Disease. Available at: [http://www.cdc.gov/OralHealth/topics/periodontal\\_disease.htm](http://www.cdc.gov/OralHealth/topics/periodontal_disease.htm). Accessed September 29, 2010.

## **TABLES**

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules. The submission system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

## **FIGURES**

Please see the *Journal of Periodontology* [Digital Art Guidelines](#) for detailed instructions on submitting high-quality images.

### **Figure Legends**

Legends should be typed double-spaced with Arabic numbers corresponding to the figure. When arrows, symbols, numbers, or letters are used, explain each clearly in the legend; also explain internal scale, original magnification, and method of staining as appropriate. Panel labels should be in capital letters. Legends should not appear on the same page as the actual figures.



## FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliations; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment, medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: \*, †, ‡, §, ¶, #, \*\*, ††, etc.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Journal of Periodontology includes supplementary material in the online Journal ([www.joponline.org](http://www.joponline.org)). All supplemental material should be called out in the text.

### Supplementary Figures and Tables

Journal of Periodontology articles are limited to a combined total of six figures and tables in the print publication. Any additional figures and tables should be submitted as supplementary files. Each supplementary figure or table should be submitted as a separate file. Please follow the guidelines regarding resolution, format, etc. for printed figures (see [Digital Art Guidelines](#)) and tables (see above) when preparing supplementary figures and tables. In summary, each figure, table, or multimedia file should be uploaded separately and the file names should clearly identify the file (i.e., SupplementaryFigure1.tif, SupplementaryTable1.xls, etc.). If file size limitations prevent you from uploading your supplemental material, please e-mail [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org).

### Supplementary Videos

The Journal of Periodontology publishes short videos to supplement a paper when appropriate. Most standard video formats are accepted. Videos should be edited to remove extraneous material. Authors should adhere to OSHA regulations when preparing their videos. Please e-mail [bethanne@perio.org](mailto:bethanne@perio.org) for information on how to submit videos. If your video is accepted for publication, all authors will need to submit a video copyright form. This form can be found on [ScholarOne Manuscripts](#) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms."

## STYLE

Please follow the guidelines below when preparing a manuscript:

- Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.
- Do not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, e.g., or i.e.
- Use a block style; do not tabulate or indent material.
- Refer to the newest edition of the Glossary of Periodontal Terms published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.
- Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the Annals of Periodontology, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions).
- Create equations as text, treating any mathematical symbols as special characters and assigning them the Symbol font.
- Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal/National) numbering system.
- Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

## **AUTHORSHIP**

Individuals identified as authors must meet all of the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition, analysis, or interpretation of data; 2) drafting the article

or revising it critically for important intellectual content; 3) final approval of the version to be published; and 4) agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Once the Journal has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Jerry Eberle, Editorial Specialist) or e-mailed to [jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (see below).

### **Conflict of Interest and Financial Disclosure Forms**

A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted by each author. A link to this electronic form will be e-mailed to each author after manuscript submission. Due to this, **all authors are required to have accounts with valid e-mail addresses in ScholarOne Manuscripts** and be listed as authors for the submitted paper. Submitting authors are able to create accounts for co-authors.

### **CLINICAL TRIALS**

If your manuscript is reporting a randomized clinical trial, you are required to submit a CONSORT checklist with your manuscript. More information can be found at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org).

All clinical trials must be registered prior to submission to the Journal of Periodontology at one of the registration sites listed below. The registration number and date of registration should be included in the Materials and Methods section. **Starting January 1, 2016, all clinical trials must be registered prior to initiation (i.e., recruitment) of the trial.** Please see <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn#WhatIs> for more information regarding clinical trials.

- U.S. National Institutes of Health Clinical Trials Registry - <http://www.clinicaltrials.gov>
- EU Clinical Trials Register - <https://www.clinicaltrialsregister.eu>
- WHO International Clinical Trials Registry Platform - <http://www.who.int/ictrp/en>

## **ANIMAL AND HUMAN TRIALS**

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects **AND** that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2013. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless written consent from the patient is submitted.

For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

## **PRODUCT IDENTIFICATION**

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

## **REVISED MANUSCRIPTS**

Revised manuscripts should be submitted online at [ScholarOne Manuscripts](#) by the same author who submitted the original manuscript. Authors have 30 days to submit a revision. Revisions should adhere to the same requirements as original submissions. Additionally:

1. A detailed response to each reviewer comment for the original manuscript should be included. This response should also describe what changes were made in the manuscript to address each comment in the reviews.
2. Only the most recent version of each file should be uploaded. You may have to delete older files from the Author Center.
3. **Please upload a version of the manuscript with changes highlighted or track changes enabled. This should be uploaded as a supplemental file.**
4. Figures and tables should be resubmitted with revised manuscripts, even if they were not revised.

## **REVIEW PROCESS**

## **Peer Review**

The Journal of Periodontology is a peer-reviewed publication. All manuscripts, including Reviews, Commentaries, and Case Series are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

## **Checking the Status of a Manuscript**

During the peer-review process, the current status of a manuscript can be found in the Author Center (click "Submitted Manuscripts" or "Manuscripts I Have Co-Authored"). Once a decision has been made, all authors are notified by e-mail. No hard copy letters will be mailed.

## **MANUSCRIPT ACCEPTANCE**

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. All authors are required to sign a copyright form. An e-mail with a link to this electronic form will be sent to all authors upon acceptance.

Once all forms are received by the editorial office, an unedited version of the accepted manuscript will appear online ahead of print at <http://www.joonline.org/toc/jop/0/0>. Once a manuscript is online ahead of print, it is fully citable based on the Digital Object Identifier (DOI) assigned to the manuscript. Manuscripts will be copyedited, published online, and printed (unless online-only) in an issue of the Journal approximately 4 to 5 months after acceptance. Authors will be notified about a final publication date by the Editorial Office.

## **Reprints**

Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading. Reprints can be purchased in 4-color or black and white. Electronic reprints are also available.

## **Online-Only Publication**

Accepted manuscripts that are classified by the Editors as "Discovery Science" will be placed on an accelerated schedule for online-only publication. They will be assigned to an issue, copyedited, and published in the online Journal. Online-only manuscripts will be listed in the printed table of contents of the assigned issue but will not appear in the printed issue. Manuscripts are classified as "Discovery Science" if: a) the study is conducted in isolated

cells or tissues to explore mechanisms relative to periodontitis/periodontal tissues; or b) the research is not within one step of clinical application.

### **Funding Agency Requirements**

Consistent with current policies, authors who have papers based on funded research accepted for publication in the Journal of Periodontology may make their final accepted paper or published article available to agency depositories. However, authors should indicate that the paper may not be released publicly until 12 months following final publication in an issue.

Authors are responsible for complying with all funding agency requirements.

### **QUESTIONS**

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Editorial Specialist, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660.

Telephone: 312/573-3255; e-mail:[jerry@perio.org](mailto:jerry@perio.org).