Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Odontologia

Rosa Maria Jardim Rodrigues

Efeito do tratamento periodontal nos níveis de osteocalcina sérica em pacientes com diabetes tipo 2 e periodontite crônica severa

Rio de Janeiro
2015

Rosa Maria Jardim Rodrigues

Efeito do tratamento periodontal nos níveis de osteocalcina sérica em pacientes com diabetes tipo 2 e periodontite crônica severa

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Orientadores: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer

Prof. Dr. Anibal Sanchez Moura

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

R696 Rodrigues, Rosa Maria Jardim.
Efeito do tratamento periodontal nos níveis de osteocalcina sérica em pacientes com diabetes tipo 2 e periodontite crônica severa / Rosa Maria Jardim Rodrigues. – 2015.
42 f.
Orientadores: Ricardo Guimarães Fischer e Anibal Sanchez Moura.
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Osteocalcina. 2. Periodontite crônica. 3. Diabetes Mellitus Tipo 2. I. Fischer, Ricardo Guimarães. II. Moura, Anibal Sanchez. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

CDU
616.314

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

_____ _____

Assinatura Data

Rosa Maria Jardim Rodrigues

Efeito do tratamento periodontal nos níveis de osteocalcina sérica em pacientes com diabetes tipo 2 e periodontite crônica severa

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2015.

Orientadores:

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer

Faculdade de Odontologia - UERJ

Prof. Dr. Anibal Sanchez Moura

Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

_____

Prof. Dr. Carlos Marcelo da Silva Figueredo

Faculdade de Odontologia – UERJ

_____

Prof^{a}. Dr^{a}. Alessandra C. S. R. Cunha

Universidade Federal do Rio de Janeiro - Campus Macaé

_____

Prof^{a}. Dr^{a}. Magali Silveira Monteiro Ribeiro

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

_____

Prof^{a}. Dr^{a}. Susyane Almeida de Souza Antunes

Associação Lar São Francisco de Assis na Providência de Deus

_____

Prof. Dr. Bernardo Oliveira de Campos

Universidade Salgado de Oliveira

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Jayde e Jacyra, e minhas queridas irmãs, Liza, Gracinha e Márcia, pelo imenso carinho e dedicação. Exemplos de luta e determinação.

Aos meus queridos “meninos”, Adir e Pedro, pelo incentivo e paciência nessa longa jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado mais essa oportunidade.

Aos professores Fischer e Anibal, por terem acreditado em mim e me apoiado sempre.

Aos professores de toda minha vida acadêmica, cada um deles contribuiu para esse momento.

Aos meus amigos da equipe de Prótese Dentária da ABO-RJ, Edson, Abdala, Serginho, Gilberto, Marcelo e Jorge, pelo apoio de sempre.

Aos funcionários da UERJ que sempre me atenderam com um sorriso, em especial a minha pequena Nete e a irreverente Ritinha.

Às meninas do Laboratório de Fisiologia do IBRAG, Vivian, Alessandra e Érica por estarem sempre prontas para ajudar e principalmente, Anatália, que me ajudou no experimento com muita paciência.

Aos colegas que fiz durante o curso, sofremos, mas rimos muito também.

Aos incansáveis Ronaldo e Célia pela disposição de ajudar sempre.

Aos pacientes que sempre atenderam às nossas solicitações.

Obrigada a todos!!

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes.

Martin Luther King

RESUMO

RODRIGUES, Rosa Maria Jardim. **Efeito do tratamento periodontal nos níveis de osteocalcina sérica em pacientes com diabetes tipo 2 e periodontite crônica severa**. 2015. 40f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

O tecido ósseo é metabolicamente ativo e sofre um processo contínuo de renovação e remodelação. A osteocalcina é um peptídeo secretado pelos osteoblastos. Apesar de ser primariamente depositada na matriz óssea recém-formada, uma pequena fração entra em circulação na corrente sanguínea, sendo considerada como um marcador de formação óssea e interferir na homeostasia da glicose. O objetivo deste estudo foi investigar se o tratamento periodontal afeta os níveis séricos de osteocalcina em pacientes com DM2 e periodontite crônica severa. 26 pacientes foram divididos em grupo teste (n=13, idade média de 55,8 ± 8,4 anos, 9 homens e 4 mulheres) e controle. (n=13, idade média de 59,4± 8.4, 5 homens e 8 mulheres). O grupo teste recebeu tratamento periodontal e grupo controle nãorecebeu tratamento periodontal imediato. O exame periodontal incluiu medidas de IP (Índice de placa), SS (Sangramento à sondagem), PBS (Profundidade de bolsa à sondagem), NIC (Nível de inserção clínica). Exames laboratoriais incluíram HBA1c, glicemia estimada, glicose, triglicerídeo, colesterol total e frações. A concentração de osteocalcina sérica foi analisada pelo ELISA. O exame periodontal, exames laboratoriais e concentração de osteocalcina foram reavaliados 90 dias após. Os resultados mostraram que não houve alterações significativas nos parâmetros periodontais, exames laboratoriais, e níveis de osteocalcina 90 dias após o tratamento periodontal. Conclusão: o tratamento periodotnal não influenciou nos níveis séricos da osteocalcina em pacientes com diabetes melllitus tipo 2 e periodontite crônica severa.

Palavras chaves: Osteocalcina. Periodontite crônica. Diabetes Mellitus Tipo 2.

ABSTRACT

RODRIGUES, Rosa Maria Jardim. **Effect of periodontal therapy on serum osteocalcin levels in patients with type 2 diabetes and severe chronic periodontitis**. 2015. 40f. Tese.(Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Bone tissue is metabolically active and undergoes a continuous process of resorption and formation. Osteocalcin is a peptide secreted by osteoblasts. Although primarily deposited in newly formed bone matrix, a small fraction enters into circulation in the bloodstream and is considered as a marker of bone formation and interferes with glucose homeostasis. The aim of this study was to investigate whether periodontal treatment affects serum osteocalcin levels in patients with type 2 diabetes and severe chronic periodontitis. 26 patients were divided into test group (n = 13, mean age 55.8 ± 8.4 years, 9 men and 4 women) and control. (n = 13, mean age 59.4 ± 8.4, 5 men and 8 women). The test group received periodontal treatment and untreated control group. Periodontal examination included PI measures (plaque index), BOP (bleeding on probing), PPD (probing pocket depth), CAL (clinical attachment level). Laboratory tests included HbA1c, glucose, triglyceride, total cholesterol and fractions. The concentration of serum osteocalcin was analyzed by ELISA. Periodontal examination, laboratory tests and concentration of osteocalcin were reassessed after 90 days. The results showed no significant changes in periodontal parameters, laboratory tests, and osteocalcin levels 90 days after periodontal treatment. In conclusion, periodontal treatment did not influence the serum levels of osteocalcin in patients with type 2 diabetes and severe chronic periodontitis.

Keywords: Osteocalcin. Chronic periodontitis. Diabetes Mellitus Type 2.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos incluindo idade, índice de massa corpórea (IMC), circunferência abdominal e pressão sistólica e diastólica (média ± desvio padrão) e frequência do gênero e raça. Grupos controle e teste..... 28

Tabela 2 - Média (± desvio padrão) dos parâmetros clínicos periodontais nos grupos controle e teste, nos dias 0 e 90..... 29

Tabela 3 - Média (± desvio padrão) dos exames laboratoriais nos dias 0 e 90..... 30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	*American Diabetes Association*
cOC	Osteocalcina carboxilada (aitva) (Glu)
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
GAD	Ácido glutâmico descaroxilase
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL	Colesterol de alta densidade
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IAAs	Anti-insulina
IA2	Anti-tirosina fosfatase
I-CAs	Anti células da ilhotas
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
IEDE	Instituto Estadual de Endocrinologia e Diabetes
IMC	Índice de massa corporal
IP	Índice de placa
LDL	Colesterol de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MODY	Maturity-Onset-Diabetes of the young
NIC	Nível de inserção clínica
OMS	Organização Mundial de Saúde
PSB	Profundidade de sondagem de bolsa
SS	Sangramento a sondagem
ucOC	Osteocalcina não carboxilada (inativa) (Gla)
UERJ	Universidade Estadual do Rio de Janeiro
VLDL	Colesterol de muita baixa densidade

LISTA DE SIMBOLOS

mg/dl	Miligrama/decilitro
mm	Milímetro
pg/ml	Picograma/mililitro
rmp	Rotação por minuto

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	12
1	**REVISÃO DE LITERATURA**.....	14
1.1	**Diabetes Mellitus**.....	14
1.1.1	Diabetes Mellitus Tipo 1.....	14
1.1.2	Diabetes Mellitus Tipo 2.	15
1.1.3	Outros tipos de diabates.....	15
1.2	**Doença Periodontal**.....	17
1.3	**Diabetes Mellitus x Doença Periodontal**...	17
1.4	**Metabolismo ósseo**.....	18
1.4.1	Osteocalcina.....	19
1.4.2	Osteocalcina na Diabetes Mellitus....	20
1.4.3	Osteocalcina na Doença Periodontal.....	21
2	**PROPOSIÇÃO**.....	23
3	**MATERIAIS E MÉTODOS**.....	24
3.1	**Seleção de pacientes**.....	24
3.2	**Monitoramento clínico**	24
3.3	**Coleta de sangue**.....	25
3.4	**Procedimentos terapêuticos**.....	26
3.5	**Dosagem de osteocalcina**.....	26
3.6	**Análise estatística**.....	26
4	**RESULTADOS**.....	28
5	**DISCUSSÃO**.....	31
	CONCLUSÃO.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34
	APÊNDICE - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	40

INTRODUÇÃO

Doenças periodontais se referem às perturbações inflamatórias comuns de gengivite e periodontite, causadas por microorganismos patogênicos em um biofilme ou placa bacteriana que se forma adjacente aos dentes. A gengivite é a forma mais branda da doença periodontal, com uma alta incidência na população, porém reversível com uma higiene oral eficaz[1]. Na periodontite ocorre um aumento do *turnover* do osso alveolar, embora possa haver uma predominância da reabsorção sobre a formação óssea levando a perda óssea e perda de inserção clínica, podendo resultar na perda do dente[2].

Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde) a hiperglicemia causa em torno de 5% de todas as mortes globais por ano, sendo que 80% das pessoas que vivem com a doença estão em países de baixo ou médio desenvolvimento. Mortes por diabetes aumentarão em mais de 50% nos próximos 10 anos se medidas urgentes não forem tomadas[3]. O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença de peso global. Estima-se que tenha afetado mais de 23,6 milhões de americanos e causado a morte de mais de três milhões de adultos em todo mundo. Este número é esperado que dobre até 2050[4]. DM2 é uma das doenças crônicas de maior impacto nos gastos de saúde, quando mal controlada, traz complicações macro e microvasculares graves, que oneram os serviços de saúde[5].

A influência do diabetes na saúde periodontal tem sido discutida amplamente na literatura odontológica. Estudos relacionam a incidência e a severidade da doença periodontal em pacientes diabéticos com controle metabólico inadequado[6,7] e o DM2 pode ser considerado um fator de risco para a doença periodontal. Por outro lado, estudos também demonstram que as infecções periodontais podem afetar adversamente o controle glicêmico[8,9].

A osteocalcina é uma proteína sintetizada pelos osteoblastos maduros e apesar de ser primariamente depositada na matriz óssea recém-formada, uma pequena fração entra em circulação na corrente sanguínea. O nível desta proteína no soro é

considerado como um marcador de formação óssea[10,11] e, é rotineiramente medido para investigar e monitorar desordens do metabolismo ósseo[12].

Pesquisas recentes apontam para o fato de que o metabolismo ósseo pode estar envolvido na homeostasia glicêmica através da osteocalcina. Camundongos geneticamente modificados para supressão de receptores desta proteína exibiram altos níveis de glicose no sangue, hipoinsulinemia, poucas células β pancreáticas e reduzida sensibilidade à insulina[13,14]

Assim como outros marcadores, a osteocalcina também se faz presente no fluido gengival, diversos estudos encontraram uma significativa relação do nível da osteocalcina no fluido e a periodontite[15,16,2]. Entretanto, poucos correlacionam os níveis séricos da osteocalcina com a doença periodontal e DM (diabetes mellitus). E ainda, o seu papel na progressão da doença periodontal ainda não está claro.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi Investigar se pacientes com periodontite crônica e DM2 exibem diferentes concentrações de osteocalcina sérica após serem submetidos a tratamento periodontal.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Diabetes Mellitus

DM é uma doença caracterizada pela elevação da glicose no sangue. Pode ocorrer devido a defeitos na secreção ou na ação do hormônio insulina, que é produzido pelas células β pancreáticas. A função principal da insulina é promover a entrada de glicose para as células do organismo de forma que possa ser aproveitada para as diversas atividades celulares. A falta de insulina ou um defeito na sua ação resulta em acúmulo de glicose no sangue[5].

A hiperglicemia pode causar dano tecidual sem apresentar sintomas clínicos por muitos anos antes do diagnóstico, entretanto, nos casos de hiperglicemia severa poderão ocorrer numerosos sintomas, incluindo poliúria, polifagia, polidipsia, perda de peso e visão borrada (Heman 99)[17]. As complicações crônicas mais comuns são nefropatia, neuropatia, retinopatia, cardiopatia e alterações vasculares. Outra complicação existente para o diabético é a doença periodontal, sendo considerada a sexta complicação do diabetes[18].

Segundo os critérios da ADA[18] (*American Diabetes Association*), em conjunto com a OMS, o diabetes mellitus é classificado em diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

1.1.1 Diabetes Mellitus Tipo 1

Abrange 5-10% dos casos de diabetes. Esta forma de diabetes mellitus é resultado da destruição das células beta pancreáticas por um processo imunológico, levando a deficiência de insulina. No exame de sangue pode ser detectada a presença desses anticorpos que são: I-CAs, IAAs, GAD e IA-2. Eles estão presentes

aproximadamente 85 a 90% dos casos de DM1 no momento do diagnóstico. Em geral costuma acometer crianças e adultos jovens, mas pode ser desencadeado em qualquer faixa etária. O quadro clínico mais característico é de um início relativamente rápido (alguns dias até poucos meses) de sintomas como: sede, diurese e fome excessivas, emagrecimento importante, cansaço e fraqueza. Se o tratamento não for realizado rapidamente, os sintomas podem evoluir para desidratação severa, sonolência, vômitos, dificuldades respiratórias e evoluir para o coma[18].

1.1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2

Nesta forma de hiperglicemia está incluída a grande maioria dos casos (cerca de 90% dos pacientes diabéticos). Nesses pacientes, a insulina é produzida pelas células β pancreáticas, porém, sua ação está dificultada, caracterizando um quadro de resistência insulínica. Isso vai levar a um aumento da produção de insulina para tentar manter a glicose em níveis normais. Quando isso não é mais possível, surge o quadro de hiperglicemia. A instalação do quadro é mais lenta e os sintomas – sede, aumento da diurese, dores nas pernas, alterações visuais e outros – podem demorar vários anos para aparecerem. Se não reconhecido e tratado a tempo, também pode evoluir para um quadro grave de desidratação e coma. Ao contrário do DM1, há geralmente associação com aumento de peso e obesidade, acometendo principalmente adultos a partir dos 50 anos[18].

1.1.3 Outros tipos de diabetes

Outros tipos são bem mais raros e incluem defeitos genéticos da função das células beta (MODY 1, 2 e 3), defeitos genéticos na ação da insulina, doenças do pâncreas (pancreatite, tumores pancreáticos, (hemocromatose), outras doenças

endócrinas (Síndrome de *Cushing,* hipertireoidismo e acromegalia) e uso de certos medicamentos. Atenção especial deve ser dada ao diabetes diagnosticado durante a gestação, diabetes gestacional. Pode ser transitória ou não e, ao término da gravidez, a paciente deve ser investigada e acompanhada[18].

O diagnóstico laboratorial deve ser feito de três formas e, caso positivo, deve ser confirmado em outra ocasião. São considerados positivos os que apresentarem os seguintes resultados[18]:

a) Glicemia de jejum > 126 mg/dl (jejum de 8 horas)
b) Glicemia casual (colhida em qualquer horário do dia, independente da última refeição realizada) > 200 mg/dl, em pacientes com sintomas característicos de diabetes.
c) Glicemia > 200 mg/dl duas horas após sobrecarga oral de 75 gramas de glicose.

Existe ainda dois grupos de pacientes, identificados por esses mesmos exames, que devem ser acompanhados de perto por ter grande chance de tornarem-se diabéticos (glicemia de jejum > 110 mg/dl e < 126 mg/dl e glicemia de 2 horas após sobrecarga de 75g de glicose oral entre 140 mg/dl e 200 mg/dl)[5,18].

A Hemoglobina é uma proteína presente em nossas hemácias (glóbulos vermelhos), cuja função é transportar oxigênio no sistema circulatório. Denomina-se hemoglobina glicada (HbA1c) a fração da hemoglobina que se liga a glicose. Durante o período de vida da hemácia, 90 dias em média, a hemoglobina vai incorporando glicose concentrada no sangue. Se as taxas de glicose estiverem altas, nesse período, haverá necessariamente um aumento nos níveis de hemoglobina glicada. Desta forma, o exame de hemoglobina glicada consegue mostrar uma média das concentrações de hemoglobina em nosso sangue durante aproximadamente 60 dias, por isso oferece uma importante vantagem sobre o método tradicional para monitoramento da doença. A hemoglobina glicada é o teste mais indicado na quantificação do risco de complicações crônicas do diabetes. O teste foi originalmente usado somente para monitorar o nível de glicose do paciente diabético, mas com o aprimoramento da técnica, tem proporcionado um meio auxiliar de diagnóstico da hiperglicemia[19,20,21,22].

Atualmente, a manutenção do nível de HbA1c abaixo de 7% é considerada como uma das principais metas no controle da hiperglicemia[22].

1.2 **Doença Periodontal**

As doenças periodontais, em particular as peridontites, são doenças inflamatórias crônicas que atingem o periodonto de sustentação dos dentes, tecido conjuntivo e osso alveolar, é uma das doenças ósseas mais comuns. Pode levar a perda do dente se não tratada, principalmente na fase adulta[23,24,25,26,27].

A principal etiologia da periodontite é a placa bacteriana, a qual apresenta uma variedade de bactérias patogênicas. Produtos bacterianos, como endotoxina ou lipopolissacarídeo (LPS) são responsáveis por induzir e propagar a reação inflamatória[8]. Entretanto, evidências sugerem que a severidade e progressão da destruição periodontal podem estar relacionadas a fatores ambientais e sistêmicos, como fumo e diabetes [28,29].

Atualmente são conhecidas duas formas distintas de doença periodontal com perda de tecido de suporte e sustentação, a periodontite crônica e periodontite agressiva. A forma mais comum, a periodontite crônica, é caracterizada pela lenta perda de inserção periodontal que parece ocorrer por um extenso período de tempo. Em contraste, rápida destruição do periodonto de inserção está evidente na periodontite agressiva[1].

1.3 **Diabetes Mellitus X Doença Periodontal**

A influência do diabetes na saúde periodontal tem sido amplamente discutida na literatura odontológica[30,31,32,33] Estudos têm relacionado a incidência e a severidade da doença periodontal em pacientes diabéticos com controle metabólico inadequado[34,35].

Por outro lado, estudos que realizaram tratamento periodontal, sem cirurgia, apresentaram melhoras no controle glicêmico, induzindo que uma doença periodontal controlada pode interferir nos níveis metabólicos do paciente com diabetes[30,36,37] e um dos principais cuidados com o diabético é controlar o nível glicêmico e lipídico para reduzir o risco de doença cardiovascular[17,38,39].

A periodontite é a mais comum infecção oral e a principal causa de perda de dentes em adultos e tem sido considerada como a sexta complicação do diabetes[40,]. Reciprocamente, a periodontite foi considerada como um fator de risco para pobre controle glicêmico em pacientes com diabetes[41], induzindo que uma condição pode interferir na outra, em uma via de mão dupla[39, 42, 43, 44].

A relação entre a DM2 e a periodontite é também complicada pelo fato que o começo da primeira geralmente ocorre na meia idade, coincidindo com a época em que a periodontite se torna mais prevalente[45,46].

1.4 **Metabolismo ósseo**

A manutenção de uma excelente qualidade óssea com boas propriedades biomecânicas é essencial para locomoção e prevenção de fratura. Para alcançar este objetivo, o tecido ósseo está constantemente se renovando através de um processo fisiológico chamado “remodelação óssea”, o qual repara microdanos e participa na cicatrização de fratura. É um processo contínuo de renovação e remodelação. A remodelação óssea envolve células especializadas, começando com os osteoclastos, que reabsorvem o osso pré-existente. Estes então deixam a lacuna e os osteoblastos depositam matriz óssea que é secundariamente mineralizada e preenchida. Nos adultos saudáveis, a remodelação óssea está balanceada e pode ser vista como uma verdadeira função homeostática. Uma série de condições como idade e diversas doenças podem alterar este equilíbrio, levando ao predomínio de um sobre o outro[47].

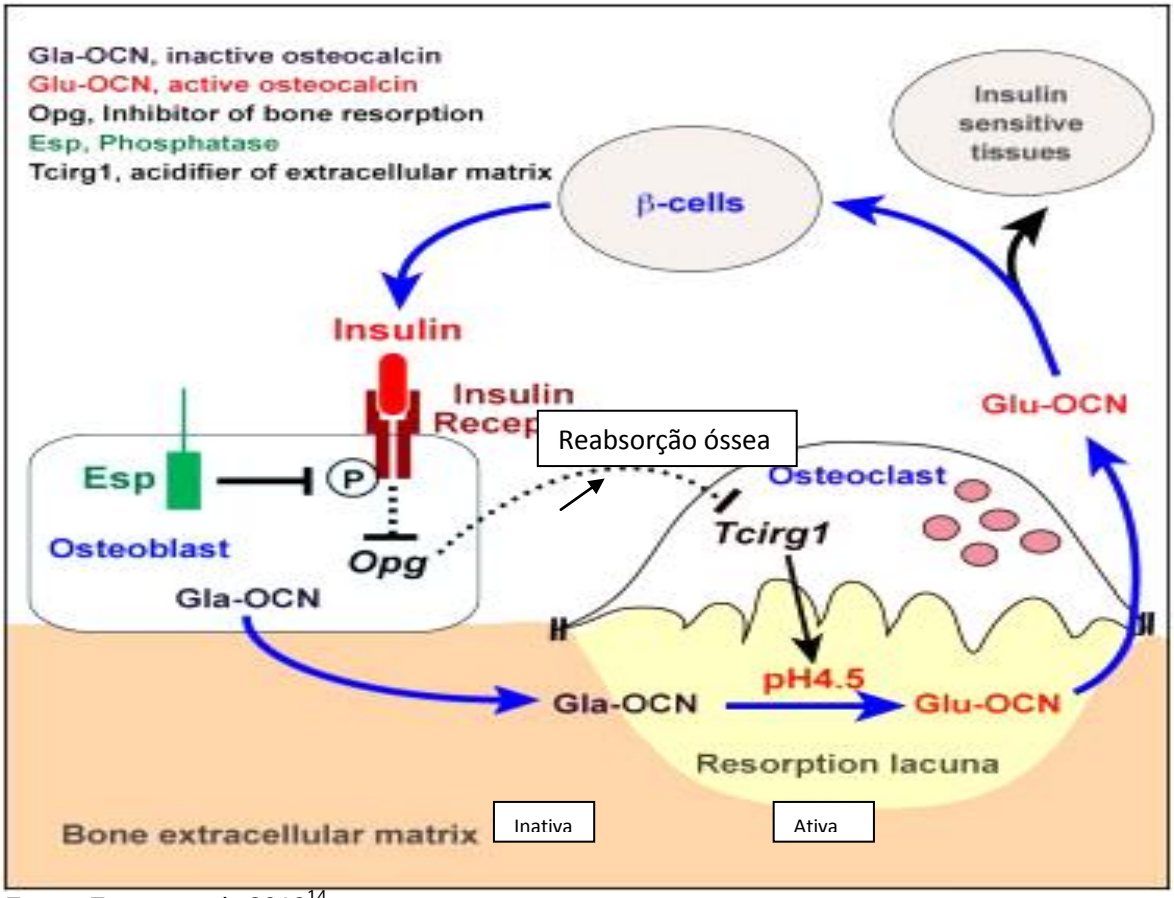
O osso é considerado um tecido multifuncional com funções mecânica, hematopoiética e metabólica. Recentemente, usando camundongos geneticamente

modificados, os autores identificaram uma nova função do osso, regular o metabolismo energético. Resumidamente, o experimento consistia em gerar camundongos suprimindo o receptor de insulina no osteoblasto resultando em animais com elevados níveis séricos de glicose, assim como baixos níveis de insulina e tolerância à glicose aumentada. Assim o osso poderia ser visto como órgão endócrino afetando o metabolismo energético[13].

1.4.1 Osteocalcina

Está presente em todos os vertebrados, é secretada pelos osteoblastos dentro da corrente sanguínea e matriz óssea, é específica para osteoblastos, e existe na forma carboxilada (Glu) e não carboxilada (Gla). Apesar de ser produzida pelos osteoblastos, estudo em ratos mostrou que durante o processo de reabsorção óssea pelos osteoclastos ocorre descarboxilização, passando a osteocalcina da forma inativa (Gla) para a forma ativa (Glu). Após a liberação na corrente sanguínea, interfere no metabolismo da glicose pela ação nas células β e na sensitividade da insulina (Fig. 1). Desta forma, tal ação da osteocalcina permite identificar uma ligação molecular fundamental entre remodelação óssea e metabolismo energético. Tal relação se dá por um mecanismo de retroalimentação entre a insulina e a osteocalcina como o apresentado na figura abaixo. Basicamente o controle do processo de reabsorção exercido pela insulina estaria comprometido pela incapacidade de inibição deste mesmo processo de reabsorção. Por exemplo, processo de reabsorção em ratos com o receptor de insulina bloqueado, o aumento dos níveis séricos da glicose, diminuição dos níveis da insulina, tanto em jejum quanto alimentado, e diminuição dos níveis da insulina imediatamente após a ingestão de glicose, são acompanhados de comprometimento da modulação do processo de reabsorção[14].

Figura 1 – Modelo de reabsorção óssea dependente da OCN



Fonte: Ferron *et al.*, 2010[14]

1.4.2 Osteocalcina na Diabetes Mellitus

Dados coletados de estudos em humanos aumentam a hipótese que existe uma relação entre a osteocalcina e a secreção e sensitividade da insulina.

Em uma série de estudos recentes, de corte transversal, alteração na concentração da osteocalcina aparece associada com variação dos nívies de hemogobina glicada e a glicose no plasma em jejum[48,49,50,51]. Outros estudos

encontraram que os níveis séricos da osteocalcina estavam diminuídos em pacientes com DM2[52,53] e também em pacientes com síndrome metabólica[54].

Em concordância com estas observações, um grande estudo longitudinal feito com homens idosos, mostrou que mudanças no nível de cOC (osteocalcina ativa) e ucOC (osteocalcina inativa) estavam associados com uma melhora na secreção e sensitividade da insulina[55]. Um estudo multicêntrico com mais de 7.000 pacientes em idade entre 55-80 anos, com alto risco de doença cardiovascular, encontrou baixa concentração no soro de ambas as formas da osteocalcina (cOC e uOC) aumentando o risco de incidência de DM2, após ajuste dos fatores de confundimento. Esses achados dão algumas evidências que a osteocalcina pode ter um papel na patogênese da DM2, estendendo seu papel além do metabolismo ósseo[14]..

1.4.3 Osteocalcina na Doença Periodontal

Muitas doenças estão associadas com anormalidade do *turnover* ósseo e redes isoladas de reabsorção óssea, incluindo a periodontite, artrite reumatoide e osteoporose. Métodos bioquímicos para medir específicos marcadores são usados rotineiramente para promover informação sobre reabsorção e formação óssea.

Poucos trabalhos relacionam o nível da osteocalcina no soro com a doença periodontal. E deste, dois apontam para o fato do nível da osteocalcina presente no soro de pacientes com as formas mais comuns da periodontite estarem mais altos quando comparados com o de pacientes sem doença periodontal[56, 57]. Outro estudo não encontrou nenhuma relação do nível da osteocalcina no soro com o estado periodontal de mulheres na menopausa, apesar de encontrar relação no fluido gengival[58].

O fluido gengival é um exudato presente no sulco gengival e há muito tempo que tem sido estudado para identificar marcadores da doença periodontal[59,60,61,62]. Assim como outros marcadores, a osteocalcina também está presente no fluido, diversos estudos encontraram uma significativa relação deste marcador ósseo e a periodontite[16,2,58,63]. Porém um trabalho que analisou o fluido de adolescentes com

aparelho ortodôntico, para investigar se a osteocalcina poderia ser detectada no fluido e se poderia estar relacionada com períodos de aumento do *turnover* ósseo, revelou apenas a presença da osteocalcina no fluido, mas sem a capacidade de se revelar como um potencial marcador do *turnover* ósseo no grupo estudado[64]. A variação da osteocalcina no fluido gengival de mulheres na menopausa após tratamento periodontal não foi significativa em relação a profundidade de sondagem e nível de inserção clínica[57]. No entanto, outro estudo de corte tranversal não encontrou significante quantidade de osteocalcina no fluido de pacientes com gengivite, porém no grupo com periodontite sim, sugerindo que parece variar de acordo com a severidade da periodontite[65].

Entretanto pouca informação está disponível a respeito da osteocalcina no soro e fluido gengival como um potencial indicador do estado periodontal.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi investigar se o tratamento periodontal afeta os níveis séricos de osteocalcina em pacientes com DM2 e periodontite crônica severa.

3 **MATERIAIS E MÉTODOS**

3.1 **Seleção de pacientes**

Este trabalho foi desenvolvido em pacientes com diagnóstico de DM2 de acordo com a OMS, há pelo menos um ano, em tratamento no IEDE (Instituto Estadual de Endocrinologia e Diabetes), na cidade do Rio de Janeiro, e de periodontite crônica severa, segundo os critérios definidos no *Internacional Workshop* para Classificação da doença periodontal[1]. Todos deveriam ter no mínimo 35 anos, não ser fumantes, não apresentar complicações médicas maiores (ex. cardiopatia) e ter ao menos oito dentes naturais. Os pacientes com diagnóstico de osteopenia ou osteoporese, desordens hepática ou imunológica, grávidas ou em período de amamentação, que tivessem feito tratamento periodontal ou uso de antibiótico com menos de seis meses, foram excluídos, assim como os fumantes. O Comitê de Ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da UERJ (Universidade Estadual do Rio de Janeiro) aprovou o protocolo de pesquisa sob o CAAE 04522112.1.0000.5259 . Todos foram informados do teor da pesquisa e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE).

3.2 **Monitoramento clínico**

Inicialmente, os pacientes foram submetidos a um questionário para registro dos dados demográficos tais como: idade, sexo, raça, nível educacional, estado civil, tabagismo, duração e histórico familiar do diabetes e doença periodontal. Foram registradas as medidas de altura e peso, para o cálculo do IMC (Índice de massa corporal), circunferência abdominal e pressão diastólica e sistólica. Em seguida exame clínico periodontal foi realizado por dois examinadores (RM e ME) devidamente

calibrados. A calibração foi feita tanto intra e interexaminador previamente ao início do estudo. Para tal, foram avaliados 12 sítios em quatro diferentes pacientes com periodontite crônica e, após aproximadamente 1 hora, o exame foi repetido. O valor de concordância intraexaminador foi de 88% e interexaminador foi de 73% para as variáveis PBS e NIC, aceitando-se 1mm para mais ou para menos. Todos os pacientes foram tratados pelo examinador 1, enquanto o examinador 2 se ocupou em monitorar a abordagem do paciente e a coleta de sangue.

O exame periodontal foi realizado com uma sonda periodontal milimetrada da Carolina do Norte (UNC15, *Hu-Friedy*; Chicago, EUA). Seis sítios por dentes foram avaliados (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual, mesio-distal). Registraram-se dados de profundidade de sondagem de bolsa (PBS), perda de nível de inserção clínica (NIC), sangramento à sondagem (SS), presença ou ausência de placa bacteriana (IP) e número de dentes presentes. O diagnóstico de DM2 foi dado pela própria instituição e para definição de doença periodontal crônica severa foi estabelecido a presença de pelo menos 2 sítios com PSB ≥ 6mm e NIC ≥ 5 mm. Os exames de sangue para avaliação dos marcadores do controle metabólico foram realizados no próprio centro de referência, sendo solicitados e registrados: a hemoglobina glicada (HbA1c%), nível glicêmico (glicose e glicemia estimada) e perfil lipídico (triglicerídeo, colesterol total, colesterol HDL, LDL e VLDL). A coleta de sangue e as medições clínicas, foram realizadas antes de qualquer terapia e repetidas 3 meses após.

3.3 **Coleta de sangue**

Na mesma ocasião da coleta para os exames laboratoriais, um total de 4 ml de sangue foi transferido para um tubo de ensaio com gel anticoagulante e centrifugado a 10.000 rpm a uma temperatura de 17º C, por 10 minutos, para separar o soro e estocado à -70º C até a análise da osteocalcina.

3.4 **Procedimentos terapêuticos**

Os vinte e seis pacientes, inicialmente selecionados, foram divididos aleatoriamente em grupo teste e controle.

Após o registro das medidas clínicas, os pacientes do grupo teste receberam quatro a seis sessões de raspagem e alisamento radicular com curetas *Gracey*, número 7/8, 11/12, 13/14 (Hu-Friedy, Chicago, EUA) sob anestesia local, quando necessário, com duração de aproximadamente 1 hora. No grupo controle não foi feita terapia periodontal, somente controle de placa e noções de higiene oral. Os procedimentos clínicos foram realizados na Clínica de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da UERJ. As demais necessidades de tratamento foram encaminhadas às disciplinas de acordo com a especialidade e disponibilidade.

3.5 **Dosagem de osteocalcina**

A dosagem sérica da osteocalcina foi analisada no laboratório de fisiologia do IBRAG (Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes) no HUPE, utilizando-se o Kit SEA 471HU (Millipore, ELISA KIT, Human osteocalcin) para ELISA, de acordo com as instruções do fabricante. Foram realizadas exames duplicados para cada amostra.

3.6 **Análise Estatística**

Os resultados foram inicialmente avaliados utilizando uma análise descritiva, expressa pela média e desvio padrão (±). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SPSS 19.0. Os testes de normalidade *Kolmogorov-*

Smirnov e *Shapiro-Wilk* foram aplicados para verificar a distribuição dos dados na curva de normalidade. Para os dados com distribuição normal foi utilizado o teste t pareado para as avaliações intra-grupos nos diferentes períodos; e teste t para amostras independentes entre os grupos. Para os dados não paramétricos, foi aplicado o teste de *Wilkoxon*, nas avaliações intra-grupos e Mann-Whitney, nas avaliações entre os grupos. Foi considerada diferença estatisticamente significante quando $p < 0.05$.

4 **RESULTADOS**

Na Tabela 1 são apresentados os dados que caracterizam a amostra. A média de idade foi de 55,8 (± 8,4) anos para o grupo controle e 59,4 (± 8,4) anos para o grupo teste. No grupo controle um total de 39% do sexo masculino e 23% da raça branca. Enquanto no grupo teste 69% do sexo masculino e 46% da raça branca. Não foram observadas diferenças significativas no IMC, circunferência abdominal, pressão arterial sistólica e diastólica.

Tabela 1 – Dados demográficos incluindo idade, índice de massa corpórea (IMC), circunferência abdominal e pressão sistólica e diastólica (média ± desvio padrão) e frequência do gênero e raça. Grupos controle e teste

Variável	Controle (n=13)	Teste (n=13)	*P*
Idade	55,8 ± 8,4	59,4 ± 8,4	NS
Gênero masc %	39	69	
Raça %	23	46	
IMC	28,7 ± 6,3	32,1 ± 4,8	NS
Cir. Abd.l (cm)	99,9 ± 13,2	109,2 ± 14,4	NS
PA sistólica	127,7 ± 14,8	123,1 ± 10,3	NS
PA diastólica	78,5 ± 9	81,5 ± 11,4	NS

Fonte: O autor, 2015.

Na Tabela 2 são apresentados os dados relacionados com a doença periodontal. No dia 0, havia uma média significativamente maior de sítios com PBS ≥ 6 mm e NIC ≥ 6 mm no grupo teste, quando comparado ao grupo controle. No grupo controle pode ser observado um porcentual médio significativamente maior de sítios com NIC ≤ 4 mm. No grupo teste, o tratamento periodontal não apresentou melhoras significativas nos parâmetros clínicos periodontais. No grupo controle, houve uma redução significativa dos níveis de IP e SS.

Tabela 2 - Média (± desvio padrão) dos parâmetros clínicos periodontais nos grupos controle e teste, nos dias 0 e 90

	Controle (n=13)		Teste (n=13)				
	Dia 0	Dia 90	Dia 0	Dia 90	P1	P2	P3
Dentes (n)	16,8 ± 7,3	-	20,2 ± 4,8	-	NS		
SS	10 ± 6,9	8 ± 6	27,7 ± 44,1	16 ±16,8	NS	0,03	0,30
IP	32,2 ± 23,1	19,5 ± 16,5	31,4 ± 24	28,2 ± 23,5	NS	0,003	0,57
% nic < 4 mm	84,8 ± 10,4	84,5 ±10,4	57,7 ± 21,8	55,3 ±19,8	0.001	0,24	0,6
% nic 4-5 mm	7 ± 6,3	6,5 ±6,6	17,7 ± 10,2	24,4 ± 12,3	0.04	0.34	0,09
% nic > 6 mm	8,8 ± 9,1	9 ± 9,2	19,4 ± 14,3	20,3 ±14,6	0.03	0,22	0,77
% pbs < 4 mm	70,7 ± 23,1	71,2 ± 22,6	67,2 ± 21,3	72,4 ±14,5	NS	0,15	0,33
% pbs 4-5 mm	26,4 ± 20,4	26,2 ± 20,1	18 ± 9,5	17,8 ±10,7	NS	0,53	0,93
% pbs > 6 mm	2,9 ± 3,3	2,6 ± 3	14,7 ± 13,4	9,9 ± 7,1	0.005	0,22	0,17

Fonte: O autor, 2015.

Na Tabela 3, são apresentados os dados relacionados aos marcadores do controle metabólico. No dia 0, os níveis médios de HDL eram significativamente maiores no grupo controle. Não houve mudanças significativas nos marcadores metabólicos 90 dias nos grupos teste e controle. Os níveis séricos de osteocalcina foram semelhantes no grupo controle e teste no dia 0. Da mesma forma, não houve

mudança significativa nos níveis séricos dessa proteína 90 dias após o tratamento periodontal.

Tabela 3 - Média (± desvio padrão) dos exames laboratoriais nos dias 0 e 90

	Grupo controle (n=13)		**Grupo teste (n=13)**				
Parâmetros	Baseline	3 meses	Baseline	3 meses	*p1*	*p2*	*p3*
HbA1c (%)	8,2 ± 3	8 ±2,7	10,9 ± 13,3	6,8 ±1,2	NS	0,24	0,3
Glicose estimada mg/dl	191,9 ± 85,6	186,9 ± 81,1	162,5 ± 41,3	151,5 ±36	NS	0,30	0,09
Glicemia mg/dl	184 ± 128,6	177,8 ±125	139,4 ± 57,7	130,1 ±30,6	NS	0,19	0,46
Triglicerídeos mg/dl	146,7 ± 91,6	122.2±60,1	182,7 ± 91,4	157,4 ±120,8	NS	0,09	0,19
Colesterol total mg/dl	179,1 ± 43,5	171 ±45	184,4 ± 52,6	181,4 ±49,3	NS	0,31	0,78
HDL mg/dl	54 ± 14,6	56,4 ±12,4	42,9 ± 11.4	46 ±11,4	0,04	0,37	0,28
LDL mg/dl	99,3 ± 27	95,1 ±29,6	110 ± 34,3	104,7 ± 27,2	NS	0,41	0,41
VDLD mg/dl	30 ± 17,9	27,4 ±13,7	36,2 ± 18,6	33,5 ± 20,3	NS	0,38	0,05
Osteocalcina pg/ml	280,7 ± 313	-	217 ± 96,2	196,4 ± 69,3	NS	-	0,57

Legenda: (P1) - T Teste para amostras independentes comparando teste e controle no dia 0; (P2) - T teste pareado comparando grupo controle nos dias 0 e 90; (P3) - T Teste pareado comparando grupo teste nos dias 0 e 90.

Fonte: O autor, 2015.

5 **DISCUSSÃO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tratamento periodontal nos níveis séricos de osteocalcina em pacientes diabéticos tipo 2 e com periodontite crônica severa. Os resultados mostraram que o tratamento periodontal não teve influência nos níveis séricos dessa proteína. A osteocalcina, predominantemente produzida pelos osteoblastos é considerada como um marcador da atividade de formação e reabsorção óssea. Devido a sua específica expressão tecidual, o nível sérico desta proteína poderia ser considerado como um indicador específico de células responsáveis pelo metabolismo ósseo. Durante o processo de reabsorção óssea, a osteocalcina carboxilada, na forma ativa, é liberada na corrente sanguínea, podendo interferir no controle glicêmico por aumentar a resistência à insulina[13]. Concentrações anormais de osteocalcina são reconhecidas como fatores que influenciam na ocorrência de doenças ósseas[66]. No presente estudo, apesar do tratamento periodontal não ter mostrado uma diferença estatística nos parâmetros clínicos avaliados, o nível sérico da osteocalcina, em valores numéricos, diminuiu após o tratamento. As possíveis razões para esse fato não são totalmente conhecidas. No entanto, a amostra do estudo foi reduzida. Além disso, o tratamento periodontal não apresentou resultados satisfatórios, como demonstrados pela manutenção dos porcentuais médios de PBS e NIC antes e depois do tratamento. Os marcadores do controle glicêmico apresentaram uma diminuição não significativa também. Diversos estudos clínicos[67,52,68,53] sugeriram uma correlação dos nívies da osteocalcina sérica com a DM2, sugerindo que a ostecalcina na forma ativa poder interferir na secreção de insulina e a proliferação de células β, como demonstrado em camundongos[13].

A periodontite poderia ser um fator prejudicial no controle glicêmico de pacientes com DM2, já que existe um aumento na reabsorção óssea alveolar. Desta forma o aumento de reabsorção óssea aumentaria os níveis de osteocalcina ativa. Como já descrito, níveis elevados de osteocalcina ativa interferem na homeostasia da glicose.

Outro estudo em camundongos mostrou que o cemento radicular também pode ser uma fonte de produção de osteocalcina[69]. Esse achado poderia aumentar a

influência da periodontite no controle glicêmico. A osteocalcina do fluido gengival pode ter sua origem na formação e reabsorção óssea e seus níveis aumentados em sítios com periodontite podem estar relacionados à severidade e quebra do equilíbrio ósseo. Estudos realizados em fluido gengival associaram o nível da osteocalcina como um marcador da doença periodontal[15,16,2], esse níveis elevados poderiam contribuir negativamente no controle glicêmico.

Poucos estudos encontraram associação entre o nível sérico da osteocalcina ativa e doença periodontal. Porém, em mulheres na menopausa, foi demonstrada uma correlação positiva entre o nível da osteocalcina sérica com o resultado do tratamento periodontal[57]. Não podemos dizer que o efeito do tratamento periodontal tenha influenciado no nível sérico da osteocalcina, mas pode ser um indício que a terapia contribua para diminuição dos níveis da osteocalcina no soro, com o controle do processo de reabsorção óssea.

Existe um interesse em desenvolver uma terapia periodontal eficiente para pacientes com diabetes, um grupo considerado como fator de risco para doença periodontal. Vários estudos visam esclarecer os efeitos da terapia periodontal no controle glicêmico de pacientes com diabetes (Stewart JE, Wager KA, Frielander AH, Zadeh HH, 2001; Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF, 2003; Janket SJ, Wightman A, Barid AE, Van Dyke TE, Jones JA, 2005)[73 74, 75]. Apesar de não ser o foco deste estudo, a terapia periodontal básica, juntamente com controle de placa e noções de higiene oral poderiam ter contribuído para a melhora no controle dos marcadores glicêmicos, principalmente na HbA1c. No presente estudo o controle glicêmico não foi influenciado pelo tratamento periodontal. Como já citado anteriormente, isso pode ter acontecido pela amostra reduzida e pela ausência de melhora dos parâmetros clínicos periodontais, como já citado anteriormente.

CONCLUSÃO

Dentro das limitações do estudo, podemos concluir que:

a) O tratamento periodontal não teve uma resposta significativa, deste modo, não podemos concluir que não tenha influenciado o nível sérico da osteocalcina assim como o controle glicêmico em pacientes com DM2 e periodontite crônica severa.

REFERÊNCIAS

1. Armitage G. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. ***Ann Periodontol.*** 1999;4:1-6.

2. Lee AJ, Walsh TF, Hodgs SJ, Rawlinson A. Gingival crevicular fluid osteocalcin in adult periodontitis. ***J Clin Periodontol.*** 1999;26:252-256.

3. Roglic G, Unwin N, Bennett PH Mathers, C, Tuomilehto, J, Nag, S, Connolly V, King H. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. ***Diabetes Care.*** 2005;28:2130-2135.

4. Narayan KM, Boyle JP, Geiss LS, Saaddine JB, Thompson TJ. Impact of recent increase in incidence on future diabetes burden: U.S 2005-2050. ***Diabetes Care.*** 2006;29:2114-6.

5. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia.10 coisas que você precisa saber sobre Diabetes Tipo 2. [Internet]. Rio de Janeiro: 2014. [Citado em: 2015 fev. 03]. Disponível em: http://www.endocrino.org.br/10-coisas-que-voce-precisa-saber-sobre-diabetes-tipo-2/.

6. Saadoun AP. Diabetes and periodontal disease: A review and update. J West Soc Periodont Abstr. 1980;28:116. Saadoun AP. Diabetes and periodontal disease: A review and update. ***J West Soc Periodont Abstr.*** 1980;28:116.

7. Little JW, Falace DA. Dental Management of the Medically Comprmised Patient. 2nd ed. St. Louis C.V.1984.

8. Kaur G, Holtfreter B, Rathmann W, Schwahn, Wallaschofski H, Schipf S, Nauck M, Kocher T. Association between type 1 and type 2 diabetes with periodontal disease and tooth loss. J Clin Periodontol. 2009; 36:765-774.

9. Gurav A, Jadhav V. Periodontitis and risk of diabetes mellitus. ***Journal of Diabestes.*** 2010;3:21-28.

10. Roach HI. Why does bone matrix contain non-collagenous proteins? The possible roles of osteocalcin, osteonectin, osteopontin and bone sialoprotein in bone mineralization and resorption. ***Cell Bio Int.*** 1994;18:617-628.

11. Delmas PD. Clinical use of biochemical markers of boné remodeling in osteoporosis. ***Bone.*** 1992;13(Suppl.1):S17-S21.

12. Christenson RH. Biochemical markers of boné metabolism: na overview. ***Clin Biochem.*** 1997;30:573-593.

13. Lee, N.K., H. Sowa, E. Hinoi, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by skeleton.. **Cell.** 2007;130: 456–469.

14. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Fattore AD, DePinho RA, Teti A, Fattore DP, Karsenty G. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. **Cell.** 2010;142:296-308.

15. Nakashima K, Roerich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E_2 e alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. **J Clin Periodontal**. 1994;21:327-333.

16. Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B, Cimasoni G. A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity. ***J Clin Periodontol.*** 1996;23:832-838.

17. Heman WH. Clinical evidence: glycemic control in diabetes. BMJ. 1999;319(7202):104-106.

18. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. ***Diabetes Care.*** 2007;30(Suppl.1):S42-S47.

19. John WG, Richardson RW. Glycosylated hemoglobin levels in patients referred for oral glucose tolerance tests. ***Diabetic Med***. 1986;3:46.

20. Seshiah V, Hariharan RS, Ganesan VS, Venkataraman S, Rajalakshmi RS, Moses SGP. Glycosylated hemoglobin in the diagnosis of diabetes mellitus. ***JAPI.*** 1986;34:852.

21. Piché JE, Swan RH, Hallmont WW. The glycosylated hemoglobin assay for diabetes: Its value to the periodontist. ***J Periodontol.*** 1989;60:640-642.

22. Bem AF, Kunde J. A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações crônicas do diabetes mellitus. ***J Bras Patol Med Lab.*** 2006;42(3):185-191.

23. Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. ***J Clin Periodontol.*** 1986;13:418-430.

24. Phipps KR, Stevens VJ. Relative contribution of caries and periodontal diseases in adult tooth loss for an HMO dental population. ***J Public Health.*** 1995;55:250-252.

25. Ong G. Periodontol reasons for tooth loss in an Asian population. ***J Clin Peridontol.*** 1996;23::307-309.

26. Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases. ***Science.*** 2000;289:1508-1514.

27. Burt B. Position paper: epidemiology of periodontal diseases. ***J Periodontology.*** 2005;76:1406-1419.

28. Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: An overview of periodontal risk factors. ***Periodontol 2000.*** 2003;32:11-23.

29. Kinane DF, Bartold PM. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. ***Periodontol 2000.*** 2007;43:278-293.

30. Katz J, Chaushu G, Sharabi Y. Elevated blood glucose levels in patients with severe periodontal disease. ***J. Periodontol.*** 2001;28(7):710-712.

31. Tsai C, Hayes C, Taylor GW. Glycemic control of type 2 diabetes an severe periodontal disease in the US adult population. ***Community Dent Oral Epidemiol.*** 2002;30:182-192.

32. Tan WC, Tay FB, Lim LP. Diabetes as a risk factor for periodontal disease: Current status and future considerations. ***Ann Acad Med.*** 2006;35(8)571-581.

33. Skamages M, Breen TL, Leroith D. Update on diabetes mellitus: prevention, treatment and association with oral diseases. ***Oral disease.*** 2008;14(2):105-114.

34. Almas K, Al-Qahtani M, Al-Yami M, Khan N. The relationship between periodontal disease and blood glucose level among type II diabetic patients. ***JCDP.*** 2001;2(4):1-6.

35. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal diseases: Associations with diabetes, glycemic control and complications. ***Oral Dis.*** 2008;14:191-203.

36. Kiran M, Arpak N, Unsal E, Erdogan MF. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. ***J Clin Periodontol.*** 2005;32:266-272.

37. Santos VR, Lima JÁ, De Mendonça AC, Maximo MBB, Faveri M, Duarte PM. ***J Periodontol.*** 2009;80:1237-1245.

38. Mealey BL. Periodontol disease and diabetes: a two-way street. ***JADA.*** 2006;137 Suppl 10:26-31.

39. Mealey BL. Diabetes mellitus and periodontal disease. ***Periodontol 2000.*** 2007;44(1):127-153.

40. Löe H. Periodontal disease. The sixth complications of diabetes mellitus. ***Diabetes Care.*** 1993;16:329-334.

41. Moore PA, Weyant RJ, Mongelluzzo MB, Myers DE, Rossie K, Guggenheimer J, Block HM, Huber H & Orchad T. Type 1 diabetes mellitus and oral health: assessment of periodontal desease. ***J Periodontol.*** 1999;70:409-417.

42. American Academy of Periodontology. Position paper: Diabetes and periodontal diseases. ***J Periodontol.*** 2000;71(4):664-678.

43. Taylor GW. Bidirectional interrelationship between diabetes and periodontal diseases: An epidemiologic perspective. ***Ann Periodontol.*** 2001;6:99-112.

44. Taylor GW. The effects of periodontal treatment on diabetes. ***J Am Dent Assoc.*** 2003;134:41S-48S.

45. Tervonen T, Knuuttila M. Relation of diabetes control to periodontal pocketing and alveolar bone level. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*** 1986;61:346.

46. Camerini-Davalos RA, Velasco C, Glasser M. Bloodworth JMB. Drug-induced reversal of early diabetic microangiopathy. ***N Engl J Med.*** 1983;309:1551.

47. Confavreux CB. Bone: from a reservoir of minerals to a regular of energy metabolism. ***Kidney Int.*** 2011;79(Suppl 121):514-519.

48. Kindblom JM, Ohlsson C, LLjunggren O, Karlsson MK, Tivesten A, Smith U, Mellstrom D. Plasma osteocalcin is inverselv related to fat mass and plasma glucose in elderly Swedish men. ***J Bone Miner Res.*** 2009;24:785-791.

49. Saleem U, Mosley THJr., Kullo U. Serum osteocalcin is associated with measures of insulin resistance, adipokine levels, and the presence of metabolic syndrome. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol.*** 2010;30:1474-1478.

50. Kanazawa I, Yamguchi T, Tada Y, Yamauchi M, Yano S, Sugimoro T. Serum osteocalcin levels is positively associated with insulin sensitivity and secretion in patients with type 2 diabetes. ***Bone.*** 2011;48:720-725.

51. Sarkar PD, Choudhury AB. Relationship of serum osteocalcin levels with bloo glucose, insulin resistance and lipid profile in central Indian men with type 2 diabetes. ***Arch Physiol Biochem.*** 2012;118:260-264.

52. Zhou M, Ma X, Li H, Pan X, Tang J, Gao Y, Hou X, Lu H, Bao Y, Jia W. Serum osteocalcin concentrations in relation to glucose and lipid metabolism in Chinese individuals. ***Eur J Endocrinol.*** 2009;161:723-729.

53. Hwang YC, Jeong IK, Ahn KJ, Chung HY. Circulation osteocalcin levels is associated with improved glucose tolerance, insulin secretion and sensitivity independent of the plasma adiponectin level. ***Osteoporos Int.*** 2012;23:1337-1342.

54. Oosterwerff MM, van Schoor NM, Lips P, Eekhoff EM. Osteocalcin as a predictor of the metabolic syndrome in older persons: A population-based study. ***Clin Endocrinol (Oxf).*** 2013;78:242-247.

55. Bullo M, Moreno-Navarrete JM, Fernandez-Real JM, Salas-Salvado J. Total and undercarboxylated osteocalcin predictor changes in insulin sensitivity and beta cell function in elderly men at high cardiovascular risk. ***Am J Clin Nutr.*** 2012;95:249-255.

56. Shi F; Yu S; Xu L. Analysis of serum osteocalcin of patients with periodontitis. ***Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.*** 1996;31(5):300-302.

57. Bullon P, Chandler L, Segura Egea JJ, Cano PR, Sahuquillo AM. Osteocalcin in serum, saliva and gingival crevicular fluid: their relation with periodontal treatment outcome in postmenopausal women. ***Med. oral patol. oral cir. bucal.*** 2007; 12(3):E193-7.

58. Bullon P, Goberna B, Guerrero JM, Segura JJ, Perez-Cano R, Sahuquillo AM. Serum, saliva and gingval crevicular fluid osteocalcin: Their relation to periodontal status and bone mineral density in postmenopausal women. ***J Periodontol.*** 2005;76:513-519.

59. Curtis MA, Gillet IR, Griffiths GS, Maiden MF, Sterne JA, Wilson DT, Wilton JM, Johnson NWl. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: Laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. ***J Clin Periodontol.*** 1989;16:1-11.

60. Page RC. Host reponse tests for diagnosing periodontal diseases. Laboratory markers from analyses of gingival crevicular fluid. ***J. Periodontol.*** 1992;63:356-366.

61. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. ***Periodontology 2000.*** 2002;31:77-104.

62. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevicular fluid. ***Periodontology 2000.*** 2003;31:32-42.

63. Liu K, Meng H, Tang X, Xu L, Zhang L, Chen Z, Shi D, Feng X, Lu R. Elevated plasma calcifediol is associated with Aggressive Periodontitis. ***J Periodontol.*** 2009;80:1114-1120.

64. Griffhts GS, Moulson AM, Petric A, James IT. Evalution of oteocalcin and pyridinium crosslinks of bone collagen as markers of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontics treatment. ***J CLin Periodontol.*** 1998;25:492-498.

65. Kunimatsu K, Mataki S, Tanaka H, Mine N, Kiyoki M, Hosoda K, Kato K, Kato I. A cross-section study on osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from periodontal patients. ***J Periodontol.*** 1993;64:865-869.

66. Lian JB, Gundberg CM. Osteocalcin:biochemical considerations and clinica applications. ***Clin Orthop Relat Res.*** 1988;226:267-291.

67. Rosato MT, Schneider SH, Shapses SA , Bone turnover and insulin-like growth factor levels increase after improved glycemic control in noninsulin-dependent diabetes mellitus. **Calcif Tissue Int**. 1998;63:107-111.

68. Kanazawa I, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S et al. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters intype 2 diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab.** 2009;94:45-49.

69. Anusakkathen O, Jin Q, Zhao M, Somerman MJ, Giannobile WV. Effect of sustained gene delivery of platelet-derived growth factor or its antagonist (PDGF-1308) on tissue-enginnered cementum. **J Periodontol.** 2004;75:429-440.

70. Stewart JE, Wager KA, Frielander AH, Zadeh HH. The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabets mellitus. **J Clin Periodontol.** 2001;28:306-310.

71. Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. **J Periodontol.** 2003;74:1362-1367.

72. Janket SJ, Wightman A, Barid AE, Van Dyke TE, Jones JA. Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? **J Dent Res.** 2005;84:1154-1159.

APÊNDICE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro por este termo, que concordei em ser entrevistado (a) e participar da pesquisa desenvolvida pelas cirurgiãs dentista Rosa Maria e Maria Emilia. Fui informado (a), ainda, de que a pesquisa é orientada pelo Dr.Ricardo Gumarães Fischer a quem poderei contatar a qualquer momento que julgar necessário através do tel. 99956 4997 email rmjrodrigues@yahoo.com.br.

Afirmo que aceitei participar por minha própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro ou ter qualquer ônus e com finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa. Fui informado (a) dos objetivos estritamente acadêmicos do estudo que em linhas gerais é *"Analisar a presença de biomarcador ósseo e marcadores inflamatórios no soro"*

Fui também esclarecido (a) de que os usos das informações por mim oferecidas estão submetidas às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Minha colaboração se fará de forma anônima, por meio de entrevista, análise do meu prontuário e coleta de sangue. O acesso e a análise dos dados coletados se farão apenas pelos pesquisadores e/ou seu orientador.

Fui, ainda, informado (a) de poder me retirar dessa pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo para meu acompanhamento ou sofrer quaisquer sansões ou constrangimentos.

Atesto recebimento de uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme recomendações da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Rio de Janeiro, _____ de _____ de _____

Assinatura do participante _____

Assinatura do pesquisador _____