

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
Faculdade de Ciências de Saúde  
Departamento de Odontologia



Trabalho de Conclusão de Curso

**Análise dos níveis de colesterol, em relação ao microbioma oral de pacientes do  
Hospital Universitário de Brasília (HUB)**

**Amanda Beatriz Gonçalves Vivacqua**

Brasília, 17 de junho de 2024

**Amanda Beatriz Gonçalves Vivacqua**

**Resposta do microbioma oral frente a alterações do colesterol em pacientes do  
Hospital Universitário de Brasília (HUB)**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Departamento de  
Odontologia da Faculdade de Ciências da  
Saúde da Universidade de Brasília, como  
requisito parcial para a conclusão do  
curso de Graduação em Odontologia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Maria do Carmo Machado Guimarães

Coorientador(a): Prof(a). Dr(a). Nailê Damé Teixeira

Brasília, 2024

**Amanda Beatriz Gonçalves Vivacqua**

**Resposta do microbioma oral frente a alterações do colesterol em pacientes do  
Hospital Universitário de Brasília (HUB)**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial para a obtenção do título de Cirurgião Dentista, Departamento de Odontologia da Universidade de Brasília.

Data da defesa: 17/06/2024

Banca examinadora:

---

Prof(a). Dr(a). Maria do Carmo Machado Guimarães (Orientadora)

---

Prof(a). Dr(a). Valéria Martins de Araújo Carneiro (Membro titular)

---

Prof(a). Dr(a). Bruna Frizon Greggianin (Membro titular)

---

Prof(a). Dr(a). Evelyn Mikaela Kogawa (Membro suplente)

Dedico este trabalho a tantos indivíduos, que poucas linhas jamais irão contemplar a todos. À minha família, especialmente aos meus pais e avós, os quais foram essenciais em todas as etapas dessa árdua jornada. À minha querida irmã, Letícia Vivacqua, a qual todos os dias me faz compreender o genuíno significado de bondade e gentileza. À minha orientadora, Profa. Dra. Maria do Carmo Machado Guimarães, por toda dedicação, paciência, incentivo e carinho para o meu desenvolvimento pessoal e acadêmico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado, me protegido e me dado a oportunidade de realizar meu sonho de cursar Odontologia na Universidade de Brasília.

Aos meus pais, por sempre terem me apoiado e incentivarem, em todos os sentidos, o meu desenvolvimento acadêmico. Por sempre terem acreditado em mim, por sempre terem cuidado de mim e se esforçado ao máximo para me dar a melhor criação possível.

À minha querida irmã, a qual, desde que éramos apenas bebês, por sempre ter sido minha metade. Por sempre ter sido uma pessoa genuína, simples, bondosa e minha maior inspiração.

À minha querida avó materna, a qual sempre melhorou, quase que como mágica, todos os meus dias ruins e sempre cuidou de mim com todo amor.

Ao meu avô paterno, o qual sempre me acolheu e incentivou a realizar meus sonhos de me graduar na Universidade de Brasília.

À minha orientadora, Maria do Carmo Machado Guimarães, por sempre ter acreditado em mim, me incentivando e me guiando com todo amor possível.

Aos professores de saúde bucal coletiva da Universidade de Brasília, por terem sido essenciais para o meu desenvolvimento científico e por sempre terem me incentivado, guiado e acreditado em mim.

Aos meus queridos amigos do “grupo certo”, que foram fonte de amor, leveza e apoio durante toda a minha graduação.

A todos os queridos professores de Odontologia da Universidade de Brasília, que acreditaram em mim e contribuíram para meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos”.

Friedrich Nietzsche

## RESUMO

**Objetivo:** Este estudo pretende responder a seguinte pergunta de pesquisa: “O microbioma salivar pode estar correlacionado com o colesterol em indivíduos adultos?”. **Materiais e métodos:** Estudo observacional transversal em 30 indivíduos saudáveis ou com diabetes tipo 1 e 2 controlados e não controlados, com periodontite ou saúde gengival. Foram realizadas coleta de saliva estimulada e não estimulada, sangue periférico e exame periodontal. A saliva não estimulada foi submetida à extração de DNA microbiano, amplificação e sequenciamento Illumina do 16S rRNA. Amplicon sequence variants foram geradas (nível de filós) usando a pipeline DADA2 e o banco de dados taxonômicos SILVA. O Teste de Mann Whitney e o teste de Kruskal-Wallis foram utilizados para analisar a associação entre os indicadores periodontais e indicadores de inflamação sistêmica de 6 grupos: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol. O Teste de Correlação de Spearman com nível de significância de 5% foi utilizado para analisar a correlação entre os indicadores periodontais e indicadores de inflamação sistêmica dos 6 grupos analisados, considerando os diferentes tipos de colesterol. Boxs plots e gráficos foram gerados para facilitar a interpretação estatística dos dados. **Resultados:** Foi possível constatar que os indicadores periodontais e de inflamação sistêmica não apresentam variações significativas entre os grupos da amostra total com as 50% maiores taxas e com as 50% menores taxas, conforme a variável colesterol total. Em pacientes diabéticos, quando as taxas de colesterol não HDL e colesterol LDL sobem, ocorre uma diminuição moderada dos valores de bactérias do filo *Actinobacteriota*. Em indivíduos com periodontite, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que a taxa de colesterol não HDL e colesterol total sobem, existe uma diminuição moderada dos valores de *Firmicutes* e *Patescibacteria*. Já em relação aos indivíduos saudáveis, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que a taxa de colesterol não HDL sobe, existe uma diminuição acentuada dos valores de *Firmicutes* e *Campilonabacterota*. **Conclusões:** Foi encontrado um padrão taxonômico no microbioma salivar compatível com estudos prévios, porém esse estudo apresentou um caráter inovador, no sentido de ter analisado e descrito detalhadamente o perfil estatístico de distribuição filogenética de amostras de saliva de pacientes de um hospital universitário. O presente manuscrito, apesar de ter evidenciado achados relevantes, apresentou uma série de limitações, limitando a validade interna e externa dos resultados encontrados. Dessa forma, mais estudos são necessários para maior evidência.

**Palavras-chaves:** Periodontite, Diabetes Mellitus Tipo 2, Colesterol, Microbiota, Saliva

## ABSTRACT

**Objective:** This study aims to answer the following research question: “Can the salivary microbiome be correlated with cholesterol in adult individuals?”. **Materials and methods:** Cross-sectional observational study in 30 healthy individuals or with controlled and uncontrolled type 1 and 2 diabetes, with periodontitis or gingival health. Stimulated and unstimulated saliva, peripheral blood and periodontal examination were collected. Unstimulated saliva was subjected to microbial DNA extraction, Illumina amplification and 16S rRNA sequencing. Amplicon sequence variants were generated (phyla level) using the DADA2 pipeline and the SILVA taxonomic database. The Mann Whitney Test and the Kruskal-Wallis test were used to analyze the association between periodontal indicators and indicators of systemic inflammation in 6 groups: 50% with higher cholesterol levels and 50% with lower cholesterol levels. The Spearman Correlation Test with a significance level of 5% was used to analyze the correlation between periodontal indicators and systemic inflammation indicators of the 6 groups analyzed, considering the different types of cholesterol. Box plots and graphs were generated to facilitate statistical interpretation of the data. **Results:** It was possible to verify that periodontal and systemic inflammation indicators do not present significant variations between the groups of the total sample with the 50% highest rates and the 50% lowest rates, according to the total cholesterol variable. In diabetic patients, when the levels of non-HDL cholesterol and LDL cholesterol rise, there is a moderate decrease in the values of bacteria from the phylum Actinobacteriota. In individuals with periodontitis, there is statistical evidence to state that as the level of non-HDL cholesterol and cholesterol total increase, there is a moderate decrease in Firmicutes and Patescibacteria values. In relation to healthy individuals, there is statistical evidence to state that as the level of non-HDL cholesterol rises, there is a marked decrease in the values of Firmicutes and Campilonabacterota. **Conclusion:** A taxonomic pattern was found in the salivary microbiome compatible with previous studies, however this study was innovative in that it detailed and described in detail the statistical profile of the phylogenetic distribution of saliva samples from patients at a university hospital. The present manuscript, despite having highlighted relevant findings, presented a series of limitations, limiting the internal and external validity of the results found. Therefore, more studies are needed for greater evidence.

**Keywords:** Periodontitis, Type 2 Diabetes Mellitus, Cholesterol, Microbiota, Saliva

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos da amostra total.....	24
Gráfico 2 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos da amostra total.....	26
Gráfico 3 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos diabéticos .....	29
Gráfico 4 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos diabéticos .....	30
Gráfico 5 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com periodontite.....	33
Gráfico 6 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos diabéticos .....	34
Gráfico 7 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes e periodontite .....	36
Gráfico 8 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes e periodontite .....	37
Gráfico 9 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes sem periodontite .....	40
Gráfico 10 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes sem periodontite .....	40
Gráfico 11 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos saudáveis.....	43
Gráfico 12 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos saudáveis .....	44
Gráfico 13 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total .....	46
Gráfico 14 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes.....	46
Gráfico 15 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite .....	47

Gráfico 16 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total .....	49
Gráfico 17 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes.....	49
Gráfico 18 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite .....	50
Gráfico 19 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total .....	52
Gráfico 20 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes.....	52
Gráfico 21 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite .....	53
Gráfico 22 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total .....	55
Gráfico 23 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes.....	55
Gráfico 24 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite .....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas dos três tipos de colesterol .....	23
Tabela 2 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra com os indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol total.....	23
Tabela 3 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os diferentes tipos de colesterol e os filamentos da amostra total: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol.....	24
Tabela 4 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes.....	26
Tabela 5 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com diabetes, em relação aos indicadores periodontais e aos indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol total .....	27
Tabela 6 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os diferentes tipos de colesterol e os filamentos dos pacientes com diabetes: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol.....	28
Tabela 7 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol de indivíduos com periodontite.....	30
Tabela 8 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com periodontite, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol total. ....	31
Tabela 9 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os diferentes tipos de colesterol e os filamentos da amostra referente aos pacientes com periodontite.....	32
Tabela 10 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas de colesterol de indivíduos com diabetes e periodontite.....	34

Tabela 11 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol. ....	35
Tabela 12 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a associação entre os diferentes tipos de filo total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol. ....	35
Tabela 13 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol de indivíduos com diabetes sem periodontite. ....	38
Tabela 14 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a associação entre os diferentes tipos de filo total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol.....	38
Tabela 15 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol. ....	39
Tabela 16 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas de colesterol de indivíduos saudáveis.....	41
Tabela 17 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos saudáveis, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol ....	42
Tabela 18 - Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para avaliar a associação entre os diferentes tipos de filo total da amostra de indivíduos saudáveis: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol ....	42
Tabela 19 - Análise dos exames laboratoriais referentes às concentrações de células imunológicas e plaquetas.....	58

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	14
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	20
3.	RESULTADOS .....	23
3.1.	Amostra Total .....	23
3.2.	Pacientes com diabetes .....	26
3.3.	Pacientes com periodontite .....	30
3.4.	Pacientes com diabetes e periodontite.....	34
3.5.	Diabetes sem periodontite.....	37
3.6.	Pacientes saudáveis.....	41
4.	ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO TAXONÔMICA.....	46
4.1.	Diagramas de caixas dos principais filos encontrados nas amostras.....	46
4.1.1.	<i>Firmicutes</i> .....	46
4.1.2.	<i>Proteobacteria</i> .....	49
4.1.3.	<i>Actinobacteriota</i> .....	52
4.1.4.	<i>Bacteriodota</i> .....	55
5.	Análise descritiva das taxas de células sanguíneas dos pacientes incluídos no estudo .....	58
6.	DISCUSSÕES .....	58
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65
	ANEXOS .....	72

## 1. INTRODUÇÃO

A periodontite compreende um processo inflamatório crônico multifatorial mediado pelo hospedeiro e associado a um biofilme bacteriano disbiótico, proporcionando uma resposta inflamatória destrutiva responsável pela perda progressiva dos tecidos periodontais de sustentação dentária [1,2,3]. Conforme o sistema de classificação das doenças periodontais e peri-implantares, estabelecido em 2017 pelo Workshop Global de Periodontologia, a periodontite, independentemente de sua forma clínica, é iniciada por um acúmulo ininterrupto de biofilme subgengival, que culmina em modificações ecológicas no microbioma oral, possibilitando que uma comunidade polibacteriana dentária e seus fatores de virulência alterem sinergicamente a expressão de citocinas e quimiocinas do hospedeiro [1,4]. Vários fatores podem influenciar a disbiose de uma comunidade microbiana de um biofilme, tais como crescimento excessivo e contínuo de microrganismos, perda de diversidade microbiana, alterações na resposta local do hospedeiro mediadas por condições sistêmicas, predisposições genéticas e/ou influências ambientais [5].

Atualmente, evidencia-se que a periodontite, além de ser responsável por grande parcela das taxas de edentulismo e de disfunção mastigatória, estabelece uma estreita relação com a saúde sistêmica de um indivíduo suscetível, havendo evidências da influência do microbioma oral em doenças sistêmicas, tais como diabetes, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica [3]. Isso ocorre, em função da interação entre o microbioma oral e o microbioma sistêmico, em um quadro de bacteremias crônicas, inflamação sistêmica e/ou distúrbios do sistema imunológico [6].

Constata-se, na literatura, evidências que ratificam essa relação multidimensional entre o microbioma oral e o microbioma sistêmico, envolvendo desde o microbioma intestinal até o microbioma de placas ateroscleróticas. Em modelos de estudos experimentais envolvendo camundongos do tipo ApoE null contaminados com solução oral contendo consórcio polibacteriano de um ou mais periodontopatógenos (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Fusobacterium nucleatum*), foi-se encontrado material genético dessas bactérias compondo não somente amostras de placa gengival, mas também amostras teciduais de órgãos internos dissecados do hospedeiro (coração, aorta, fígado, baço e rins) [7,8,9]. Vale salientar que houve evidências, nesses estudos, de

que a infecção polibacteriana de origem periodontal, em função de um quadro de bacteremia crônico, contribuiu para o crescimento de placas ateroscleróticas encontradas na raiz da aorta e na aorta ascendente, participando da progressão de doenças vasculares ateroscleróticas em roedores [7,8,9].

A diabetes mellitus (DM) é uma doença altamente prevalente, que engloba diversos distúrbios heterogêneos do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, nos quais o principal achado é a hiperglicemia crônica, em função da secreção de insulina insuficiente e/ou a ação da insulina prejudicada[10]. Evidencia-se que os indivíduos portadores de diabetes mellitus, frequentemente, em função de diversas alterações no ambiente oral causadas pela elevada glicemia, apresentam manifestações bucais deletérias, tais como a hipossalivação, a doença periodontal e lesões de cárie coronárias e radiculares[11]. A associação entre diabetes e periodontite existe há mais de meio século, valendo pontuar que já foi considerada a sexta maior complicação da DM, além de ser indicador de risco para várias doenças sistêmicas, das quais a DM é a principal, atualmente [12].

A hiperglicemia pode favorecer diretamente o crescimento de patógenos periodontais ou prejudicar as funções celulares, em função da glicação de proteínas, do aumento da secreção de citocinas inflamatórias e de collagenases, agravando a destruição periodontal [13,14,15]. Compreende-se, ademais, que a periodontite afeta negativamente o controle glicêmico em pacientes diabéticos, contribuindo para o desenvolvimento e agravamento de complicações diabéticas, enquanto que a terapia periodontal contribui para uma melhora modesta do controle glicêmico em indivíduos com DM. Por conseguinte, uma relação bidirecional entre periodontite e DM foi estabelecida, haja vista de que o risco de periodontite aumenta de 2 a 3 vezes em pacientes com DM em comparação com pessoas com glicemia normal [16,17,18].

Ainda não se é compreendido, com exatidão, os mecanismos que envolvem a relação bidirecional entre diabetes e periodontite, porém já se sabe que o microbioma oral está fortemente envolvido nesse processo. Em modelos de estudos experimentais envolvendo camundongos diabéticos, foi-se evidenciado que o microbioma oral disbiótico característico da periodontite induzia modificações no perfil de resposta imunológica local (na região da cavidade oral e no baço) e na produção de mediadores da inflamação sistêmica, agravando a DM. Foram encontrados níveis elevados de osteoclastos de fosfatase ácida resistente ao tartarato (osteoclastos TRAP+), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-1

beta (IL-1 $\beta$ ) nos tecidos periodontais, o que é consistente com estudos anteriores, os quais revelaram que a invasão de patógenos periodontais como *Porphyromonas gingivalis* aumenta o pool de osteoclastos TRAP+ e induz a produção de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e interleucina-6 (IL-6), exacerbando a destruição tecidual periodontal progressiva [13,18,19]. No baço, houve uma menor abundância relativa de monócitos e macrófagos (cerca de duas vezes menos) e um aumento dos níveis de fenótipo de linfócitos CD4+, que expressam IL17R (linfócitos CD4+ T Th17), desregulando equilíbrio entre os linfócitos CD4+ T Th17 e os linfócitos T reguladores, o qual é crucial para prevenir a ativação imunológica excessiva, respostas autoimunes e patogênese da síndrome metabólica, além de ser uma ponte que liga a microbiota intestinal ao DM tipo 2[13,17,19].

Avanços nos estudos da microbiologia periodontal convergem para uma compreensão de que a periodontite é iniciada a partir de uma microbiota amplamente disbiótica e simbiótica e não apenas por “periodontopatógenos” específicos, tais como *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanarella forsythia* e *Treponema denticola*. Consoante esse modelo, diferentes membros ou combinações de genes específicos dentro da comunidade microbiana do biofilme estabelecem diversos mecanismos para moldar e estabilizar uma microbiota disbiótica. Um dos requisitos para o surgimento de uma comunidade potencialmente patogênica envolve a virulência sinérgica de certas espécies, denominadas “patógenos-chave” ou “Key stones”, as quais são capazes de modular a resposta do hospedeiro e estabelecer uma resposta inflamatória não resolutive e com grande destruição dos tecidos periodontais[20].

Ademais, baseando-se em princípios ecológicos, recentemente, na literatura científica, propôs-se uma hipótese de que há mecanismos etiológicos comuns entre a doença periodontal e cárie, no sentido de que a perda de fatores intrínsecos de resiliência e/ou mudanças prolongadas na disponibilidade de substratos metabólicos microbianos podem alterar a homeostase ecológica da microbiota oral, tanto para estágios sacarolíticos (acidogênicos) ou proteolíticos (alcalinogênicos), de modo que as duas doenças compartilham mecanismos disbióticos em comum. Isso poderia ajudar a fundamentar as razões de alterações metabólicas típicas das diabetes serem associadas a maiores incidências de ambas as doenças. Essa hipótese se fundamenta em ensaios clínicos, os quais evidenciaram que mesmo uma redução modesta do consumo de carboidratos, sem mudança nos hábitos de higiene oral, agravou os indicadores de inflamação gengival. No entanto, ainda não se está

esclarecido como diferentes vias de interação bacterianas poderiam ser correlacionadas, de forma que convirjam em dois perfis distintos de doenças [21].

A ocorrência de um conjunto de condições, que, concomitantemente, atuam como fatores de risco para as doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 é conhecida como Síndrome Metabólica (SMet) [22]. Há várias definições de Síndrome Metabólica presentes na literatura, valendo destacar que a mais comumente utilizada exige que pelo menos três critérios sejam atendidos, a saber: 1º) circunferência abdominal aumentada, 2º) baixos níveis plasmáticos da lipoproteína de alta densidade (HDL), 3º) pressão sanguínea elevada e 4º) elevados níveis de glicose [23]. Como a SMet a periodontite são condições associadas a quadros de inflamação e bacteremias sistêmicas crônicas e à resistência à insulina, potencialmente há uma relação bidirecional entre as duas condições. Nota-se que alguns estudos presentes na literatura tentaram verificar esse potencial relação, pautando-se no estudo dos microbioma oral e sistêmico.

Um estudo comparativo em humanos avaliou 17 indivíduos com periodontite grave e concluiu que a composição microbiana oral varia significativamente entre obesos (índice de massa corporal  $\geq 30$ ) e não obesos com diabetes tipo 2, implicando que a obesidade estava associada a uma redução na diversidade de espécies na cavidade oral [22]. Em um estudo transversal com 190 indivíduos, analisou-se a perda óssea periodontal e foi-se evidenciado que a periodontite pode contribuir para o desenvolvimento da síndrome metabólica [23]. Em um estudo longitudinal com 1.023 adultos, foi-se constatado que as bolsas periodontais mais profundas estão associadas a uma conversão positiva de um ou mais componentes metabólicos durante um período de quatro anos (OR: 1,6; IC 95%: 1,1-2,2) [24]. Ademais, em um estudo experimental em camundongos com síndrome metabólica, houve um aumento significativo da osteoclastogênese e da perda óssea periodontal, além de ter exacerbado a expressão de citocinas inflamatórias (Interleucina-6, proteína quimiotática de monócitos-1, RANKL e fator estimulador de colônias de macrófagos) [25].

A hipercolesterolemia, condição típica da SMet, permite o acúmulo de colesterol em macrófagos e em outras células imunes, o aumento na produção e na ativação de receptores do tipo Toll (TLR), a proliferação de monócitos e neutrófilos provenientes do baço e da medula óssea, bem como o aumento na produção de

citocinas e quimiocinas, o que exacerba mecanismos da resposta inflamatória sistêmica [26].

A relação entre periodontite e a hipercolesterolemia parece ser uma relação bidirecional, porém, ainda não está claro se a doença periodontal afeta o metabolismo lipídico ou se condições associadas à hipercolesterolemia prejudicam os tecidos de suporte periodontal [27]. Alterações nos níveis de colesterol plasmáticos, por influenciarem a resposta inflamatória do hospedeiro, podem estar potencialmente relacionadas aos processos disbióticos nos biofilmes orais. Na literatura científica, já se sabe que a dislipidemia altera o microbioma intestinal, tanto em camundongos, quanto em seres humanos, em função da geração de substratos para processos metabólicos bacterianos e da inibição do crescimento de bactérias simbióticas [28]. Entretanto, pouco se sabe sobre as possíveis alterações do microbioma oral causadas pela dislipidemia e hipercolesterolemia.

O microbioma oral e intestinal podem ser fortemente influenciados pelo colesterol. O intestino abriga trilhões de microrganismos, sendo um órgão oculto do sistema humano que estabelece a homeostase ou doença em um indivíduo. Uma série de microrganismos intestinais metabolizam e modificam moléculas dietéticas e derivadas do hospedeiro no intestino delgado, por isso foi proposto que a microbiota intestinal pode influenciar os níveis séricos de colesterol [29]. Estudos que examinam associações entre a composição da comunidade microbiana intestinal e as concentrações de colesterol circulante demonstraram que levar em consideração a abundância de bactérias intestinais específicas pode melhorar os modelos que predizem o nível de colesterol no sangue e a transferência de microbiota de doadores humanos com níveis séricos elevados de colesterol pode transmitir esse fenótipo de colesterol aos camundongos [28,29].

Outrossim, ao analisar as interações entre o microbioma oral e sistêmico, a inflamação oral local tem sido notavelmente associada a níveis de inflamação sistêmica e resistência à insulina e complicações no diabetes tipo 1 e tipo 2 em diferentes estudos [30,31]. Há também evidências de que em indivíduos diabéticos o microbioma intestinal está alterado quando comparado a indivíduos sistematicamente saudáveis. Estudos de diferentes países sugerem que o microbioma intestinal de indivíduos com DM apresenta depleção de bactérias produtoras de butirato, bactérias redutoras de sulfato e redução dos gêneros de *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Akkermansia* e *Roseburia*, além de

apresentar perfil microbiano com espécies bacterianas que esgotam os probióticos, degradam a mucina e com aumento nos gêneros *Ruminococcus*, *Fusobacteria* e *Blautia* [32,33].

Contudo, os efeitos da diabetes no microbioma oral e intestinal e, principalmente, o efeito da interação limitada do microbioma oral com o microbioma intestinal, devido à barreira bactericida gástrica, à motilidade intestinal ou às secreções biliares e pancreáticas, ainda são pouco compreendidos. Assim, a relação bidirecional entre o diabetes e o microbioma oral e intestinal ainda precisa ser explorada e elucidada, bem como ampliada para compreender as relações que envolvem biomarcadores específicos, como o colesterol.

Constata-se que a identificação dos patobiontes e patomoduladores do biofilme disbiótico característico da periodontite é essencial para o desenvolvimento de novas estratégias profiláticas, diagnósticas e terapêuticas relacionadas a essa doença [34]. Já foram encontrados microrganismos no biofilme disbiótico da doença periodontal, variando, desde representantes do reino monera, até representantes do reino protista, fungi e eucarionte ( *Entamoeba gingivalis* e *Trichomonas tenax*, por exemplo) [35]. Porém, a maioria dos estudos presentes na literatura, focam na identificação de espécies isoladas associadas às doenças periodontais e não em uma análise filogenética, a qual possibilita compreender o potencial patogênico da comunidade microbiana oral integrada. Há pouquíssimos estudos focados na descrição filogenética do microbioma oral, havendo uma grande lacuna na literatura científica, sendo necessário a realização de estudos que explorem essa temática.

Este estudo pretende responder a seguinte pergunta de pesquisa: “O microbioma salivar pode estar correlacionado com o colesterol em indivíduos adultos?”, a partir de uma análise cautelosa de exames (lipidograma, exames de glicose, hemoglobina glicada e proteína C reativa) e amostras de saliva não estimulada obtidos de pacientes do projeto de extensão “Tratamento Periodontal em Pacientes Portadores de Diabetes Mellitus Tipo 1 e 2” na Clínica Odontológica do Hospital Universitário de Brasília.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo é do tipo observacional transversal analítico e está inserido no projeto amplo “Saúde bucal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus: diagnóstico e tratamento de alterações salivares, doença periodontal, patologias endodônticas e cárie dentária” (Aprovação do Comitê de Ética CAAAE: 87962818.4.0000.0030). Esse estudo compreendeu pacientes do projeto de extensão “Tratamento Periodontal em Pacientes Portadores de Diabetes Mellitus Tipo 1 e 2”, o qual se desenvolve na Clínica Odontológica do Hospital Universitário de Brasília, centro de referência com infraestrutura adequada para o cuidado de pacientes diabéticos do Sistema Único de Saúde. A amostra da pesquisa foi por conveniência e englobou indivíduos portadores de diabetes mellitus tipo 1 ou tipo 2 medicamente comprovada, indivíduos sistemicamente saudáveis, indivíduos com e sem periodontite. Esse estudo seguiu, meticulosamente, as instruções sumarizadas no STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of cross-sectional studies [36].

Os critérios de inclusão para os pacientes com periodontite consistiram na seleção de indivíduos com, no mínimo, doze dentes; diagnóstico clínico e radiográfico de periodontite em dois ou mais dentes não adjacentes, além de idade  $\geq 30$  anos. Já em relação ao grupo de indivíduos sistemicamente saudáveis, os critérios de inclusão compreenderam indivíduos com idade  $\geq 30$  anos, saudáveis sistemicamente, com o periodonto saudável clínica e radiograficamente e com presença de, no mínimo, 20 dentes (com profundidade de sondagem clínica  $\leq 3$ mm, nível de inserção clínico  $\leq 3$ mm,  $< 10\%$  dos sítios com sangramento à sondagem. Os critérios de exclusão consistiram em tratamento periodontal prévio (últimos doze meses); uso continuado de medicamentos como antimicrobianos, imunomoduladores ou anti-inflamatórios nos últimos doze meses; doenças sistêmicas que possam interferir na condição periodontal, com exceção do diabetes para o grupo teste, como HIV, desordens imunológicas, obesidade mórbida [IMC  $40 \text{kg/m}^2$ ] ou abaixo do peso [mal nutridos IMC  $< 18,5 \text{kg/m}^2$ ], gestantes ou lactantes, tabagistas; indivíduos com idade  $< 30$  anos e etnias indígenas.

Os participantes foram entrevistados para a coleta de informações médicas e demográficas, além de dados como idade, sexo e uso de tabaco. Foi considerado não fumante, indivíduo que nunca fumou ou parou de fumar há mais de cinco anos.

O exame clínico foi realizado por examinadores experientes e calibrados e foram registrados seis sítios por dente (vestibular, méso-vestibular, disto-vestibular, lingual, méso-lingual e disto-lingual) com o auxílio de uma sonda periodontal Michigan O com marcações de Williams (Millenium, Brasil). Parâmetros periodontais observados como profundidade de sondagem, nível de inserção clínico, índice de placa visível e índice de sangramento gengival, propostos por Ainamo e Bay (1975) foram coletados [37]. Todos os dentes, com exceção dos terceiros molares, foram avaliados.

O exame clínico foi realizado no momento inicial e o exame radiográfico dos sítios estudados, quando necessário, foi realizado pela técnica do paralelismo. Todas as medidas de biossegurança (uso de luvas, óculos de proteção, gorros, máscaras, aventais e materiais esterilizados ou descartáveis) exigidas para o atendimento odontológico, bem como a utilização de medidas de radioproteção (filmes sensíveis, aventais de chumbo nos pacientes e biombos de chumbo para proteção dos pesquisadores) foram adotadas.

Foram coletados 40mL de sangue periférico de todos os participantes no momento inicial da pesquisa para verificação dos exames de glicose, hemoglobina glicada (método HPLC), proteína C reativa e lipidograma. As análises bioquímicas foram feitas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Brasília, exceto o exame de hemoglobina glicada (método HPLC), que foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas Sabin por meio de parceria. O sangue venoso foi coletado em tubos de gel separador entre 7 e 8 horas da manhã, contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético dissódico). Cada tubo, contendo a amostra de sangue e EDTA, foi avaliado dentro de três horas para análise completa do sangue.

A saliva total não estimulada também foi coletada, sem qualquer procedimento de higiene dental prévio (escovação, uso do fio ou uso de colutórios bucais) e armazenada. Para a análise da composição do microbioma salivar, o DNA microbiano foi extraído e o gene 16S rRNA foi sequenciado na plataforma MiSeq, em parceria com centro de pesquisa no Reino Unido (financiamento FAP-DF, processo no. 16991.78.45532.26042017).

Os dados de sequenciamento genético e clínicos foram analisados para responder a seguinte pergunta de pesquisa: “O microbioma salivar pode estar

correlacionado com o colesterol em indivíduos sistemicamente saudáveis ou com diabetes e/ou periodontite?”.

As variantes de sequência de amplicon (ASVs) foram geradas, a partir da técnica analítica DADA2. As reads foram filtradas e trimadas, por qualidade e tamanho. A taxonomia foi feita por mapeamento dos dados sequenciados, a partir da base de dados Silva versão 138, de tal modo que diversidades alfa e beta foram calculadas.

O Teste de Correlação de Spearman com nível de significância de 5% foi utilizado para análise da distribuição taxonômica de toda amostra, considerando os diferentes tipos de colesterol, conforme os 6 grupos analisados. O Teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para analisar variáveis independentes e níveis de colesterol dos grupos: 50 % total da amostra com maiores taxas de colesterol total (n=15) e 50 % total da amostra com menores taxas de colesterol total (n=15); 50% da amostra de diabéticos tipo 1 e tipo 2 com maiores taxas de colesterol total ( n=7) e 50% da amostra de diabéticos tipo 1 e tipo 2 com menores taxas de colesterol total( n=7); 50 % da amostra de pacientes com periodontite com maiores taxas de colesterol total( n=7) e 50% da amostra de pacientes com periodontite com as menores taxas de colesterol total( n=7); 50 % total da amostra de diabéticos tipo 1 e tipo 2 com periodontite com maiores taxas de colesterol total (n=5) e 50 % total da amostra de diabéticos tipo 1 e tipo 2 com periodontite com menores taxas de colesterol (n=4); 50% da amostra de amostra de diabéticos tipo 1 e tipo 2 sem periodontite com maiores taxas de colesterol( n=3) e 50 % total da amostra de diabéticos tipo 1 e tipo 2 sem periodontite com menores taxas de colesterol (n=2); 50% da amostra de pacientes sistemicamente saudáveis com maiores taxas de colesterol( n=5) e 50 % total da amostra pacientes sistematicamente saudáveis com menores taxas de colesterol total (n=4).

O Teste de Mann Whitney com nível de significância de 5 % foi utilizado para comparar as taxas dos diferentes tipos de níveis de colesterol LDL, colesterol HDL e colesterol não HDL entre os grupos com 50% maiores e 50% menores taxas.

Boxs plots e gráficos foram gerados para facilitar a interpretação estatística descritiva dos dados.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Amostra Total

Tabela 1 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas dos três tipos de colesterol

Descrição	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	U	P-valor	U	P-valor	U	P-valor
Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol	223	< ,001	223	< ,001	224	< ,001

Consoante a tabela 1, evidencia-se que o teste de Mann-Whitney apontou a rejeição da hipótese nula ( $p$ -valor  $<0,05$ ), ou seja, existem evidências estatísticas suficientes para constatar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferem significativamente entre os grupos da amostra total com as 50% maiores taxas e com as 50% menores taxas.

Tabela 2 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra com os indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol total

Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol			
Variáveis	Hipótese nula	P-valor	Decisão
	Profundidade de sondagem de 4 mm		0,133
Nível clínico de inserção (3 a 4mm)		0,133	Reter a hipótese nula
Glicemia		0,199	Reter a hipótese nula
Triglicérides		0,207	Reter a hipótese nula
Sangramento à sondagem		0,228	Reter a hipótese nula
Linfócitos		0,295	Reter a hipótese nula
Leucócitos		0,691	Reter a hipótese nula

Conforme a tabela 2, evidencia-se que o teste de Kruskal-Wallis não rejeitou a hipótese nula referentes a todas as variáveis, de modo que não existem evidências estatísticas suficientes para se afirmar que os valores dos diferentes indicadores periodontais e de inflamação sistêmica testados apresentam variações significativas

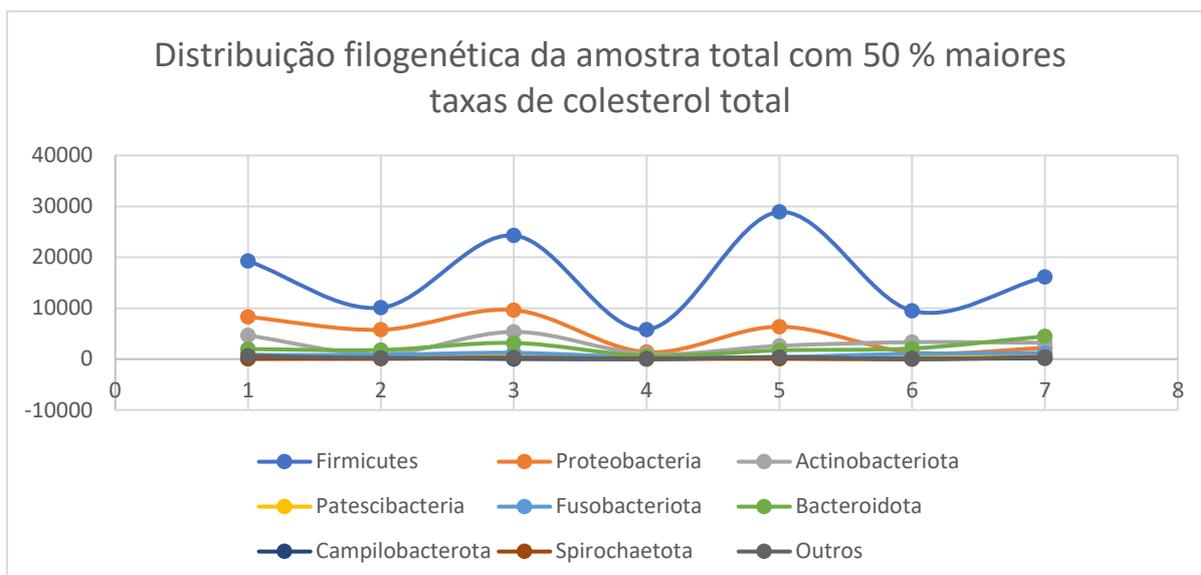
entre os grupos da amostra total com as 50% maiores taxas e com as 50% menores taxas, conforme a variável colesterol total.

Tabela 3 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os diferentes tipos de colesterol e os filos da amostra total: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol

Amostra total	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p
Firmicutes	0,183	0,33	-,526**	0,00	-,617**	0,00
Proteobacteria	-0,176	0,35	-0,263	0,16	-0,290	0,14
Actinobacteriota	0,161	0,40	-,473**	0,01	-,560**	0,00
Patescibacteria	0,089	0,64	-0,313	0,09	-,378*	0,05
Fusobacteriota	-0,114	0,55	-,381*	0,04	-0,361	0,06
Bacteroidota	0,125	0,51	-,372*	0,04	-,481**	0,01
Campilobacterota	-0,035	0,85	-0,321	0,08	-,409*	0,03
Spirochaetota	-0,014	0,94	-0,076	0,69	-0,141	0,47
Mucoromycota	0,040	0,84	-0,060	0,75	-0,087	0,66
Rotifera	0,027	0,89	-0,240	0,20	-0,328	0,09
Holozoa ph	-0,122	0,52	-0,035	0,85	0,031	0,88
Retaria	0,027	0,89	-0,213	0,26	-0,313	0,11
Diatomea	-0,113	0,55	0,004	0,98	0,030	0,88
Synergistota	-0,064	0,74	0,072	0,70	0,052	0,79
Euglenozoa	0,010	0,96	0,111	0,56	0,120	0,54
Arthropoda	-0,085	0,65	0,097	0,61	0,064	0,75

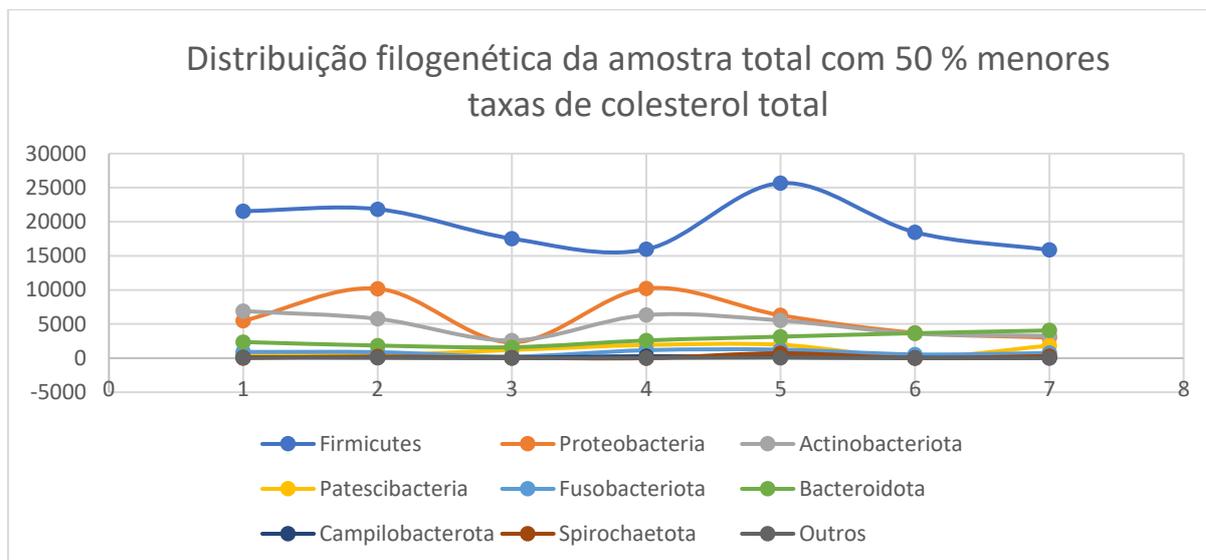
Conforme a tabela 3, dos 30 pacientes comparados, ainda que diversos filos apresentem coeficientes de correlação moderados ou fortes, entre 0,4 e 0,9, houve correlação de spearman significativa entre *Firmicutes* e colesterol LDL, *Actinobacteriota* e colesterol LDL, *Fusobacteriota* e colesterol LDL, *Firmicutes* e colesterol não HDL, *Actinobacteriota* e colesterol não HDL, *Fusobacteriota* e colesterol não HDL, *Campilobacterota* e colesterol não HDL e *Bacteroidota* e colesterol não HDL. Nesse sentido, existem evidências estatísticas para afirmar que, à medida que as taxas desses filos sobem, existe uma alteração moderada dos valores de colesterol correspondentes.

Gráfico 1- Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos da amostra total



Consoante ao gráfico 1, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% maiores taxas de colesterol total da amostra total englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 5796; valor máximo: 30330; média: 18668,2), *Proteobacteria* (valor mínimo: 1379; valor máximo: 13598; média: 5094,53), *Actinobacteria* (valor mínimo: 961; valor máximo: 6903; média: 3367,07) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 660; valor máximo: 4473; média: 2662,67), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 58,14% de toda amostra salivar, ao passo que às do filo *Proteobacteria* englobam 18,55%, as do filo *Bacteroidota* equivalem a 6,65% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 12,42% da amostra filogenética.

Gráfico 2 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos da amostra total



Consoante ao gráfico 2, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% menores taxas de colesterol total da amostra total englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 10188; valor máximo: 24273; média: 19650), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2123; valor máximo: 9633; média: 6256,8), *Actinobacteria* (valor mínimo: 961; valor máximo: 6903; média: 4342,8) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1795; valor máximo: 4881; média: 2836,4), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 67,89% de toda amostra salivar, ao passo que às do filo *Proteobacteria* englobam 21,88%, as do filo *Bacteroidota* equivalem a 11,15 % e as do filo *Actinobacteriota* incluem 16,61% da amostra filogenética.

### 3.2. Pacientes com diabetes

Tabela 4 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes

Grupos de Colesterol	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	U	P-valor	U	P-valor	U	P-valor
Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol	0	0,036	0	0,029	0	0,029

Consoante a tabela 4, evidencia-se que o teste de Mann-Whitney apontou a rejeição da hipótese nula ( $p$ -valor  $<0,05$ ), ou seja, existem evidências estatísticas suficientes para constatar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferem significativamente entre os grupos com as 50% maiores taxas e com as 50% menores taxas dos indivíduos com diabetes.

Tabela 5 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com diabetes, em relação aos indicadores periodontais e aos indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol total

		Diabetes		
		Hipótese nula	P-valor	Decisão
Variáveis independentes	Glicemia		0,001	Rejeitar a hipótese nula
	Nível clínico de inserção de 3 a 4mm		0,018	Rejeitar a hipótese nula
	Profundidade de sondagem de 4mm		0,025	Rejeitar a hipótese nula
	Leucócitos		0,102	Reter a hipótese nula
	Sangramento à sondagem		0,215	Reter a hipótese nula
	Triglicerídeos		0,253	Reter a hipótese nula
	Linfócitos		0,432	Reter a hipótese nula

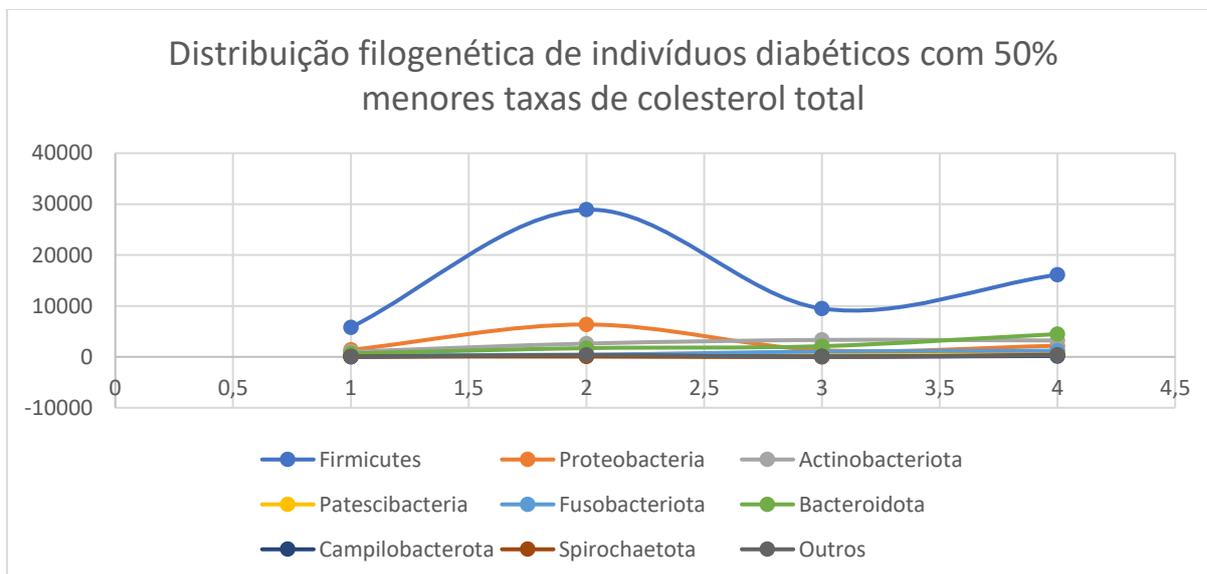
Conforme a tabela 5, evidencia-se que o teste de Kruskal-Wallis não rejeitou a hipótese nula referentes a todas as variáveis, de modo que não existem evidências estatísticas suficientes para se afirmar que os valores dos diferentes indicadores periodontais e de inflamação sistêmica testados apresentam variações significativas entre os grupos de diabéticos, conforme a variável colesterol total.

Tabela 6 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os diferentes tipos de colesterol e os filos dos pacientes com diabetes: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol

Diabetes total	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p
Firmicutes	0,260	0,370	-0,114	0,697	-0,398	0,159
Proteobacteria	0,106	0,719	-0,266	0,358	-0,495	0,072
Actinobacteriota	0,172	0,557	-,640*	0,014	-,666**	0,009
Patescibacteria	-0,053	0,858	-0,231	0,427	-0,235	0,418
Fusobacteriota	0,099	0,736	-0,090	0,759	-0,143	0,626
Bacteroidota	0,062	0,834	-0,356	0,211	-0,341	0,233
Campilobacterota	0,200	0,493	-0,048	0,869	-0,178	0,543
Spirochaetota	-0,244	0,400	0,243	0,402	0,139	0,637
Mucoromycota	0,138	0,639	0,266	0,357	0,138	0,639
Rotifera	0,310	0,281	0,172	0,556	-0,103	0,726
Holozoa_ph	-0,032	0,912	0,199	0,496	0,011	0,971
Retaria	0,280	0,333	0,212	0,467	-0,039	0,895
Heterolobosea	0,254	0,381	0,421	0,133	0,188	0,520
Diatomea	-0,119	0,684	0,383	0,177	0,174	0,551
Synergistota	-0,415	0,140	-0,185	0,527	-0,100	0,734
Euglenozoa	0,172	0,558	0,289	0,316	0,045	0,880
Cyanobacteria	-0,172	0,556	0,379	0,182	0,310	0,281
Desulfobacterota	0,197	0,500	0,300	0,298	0,036	0,903
Arthropoda	0,163	0,579	0,336	0,240	0,094	0,750

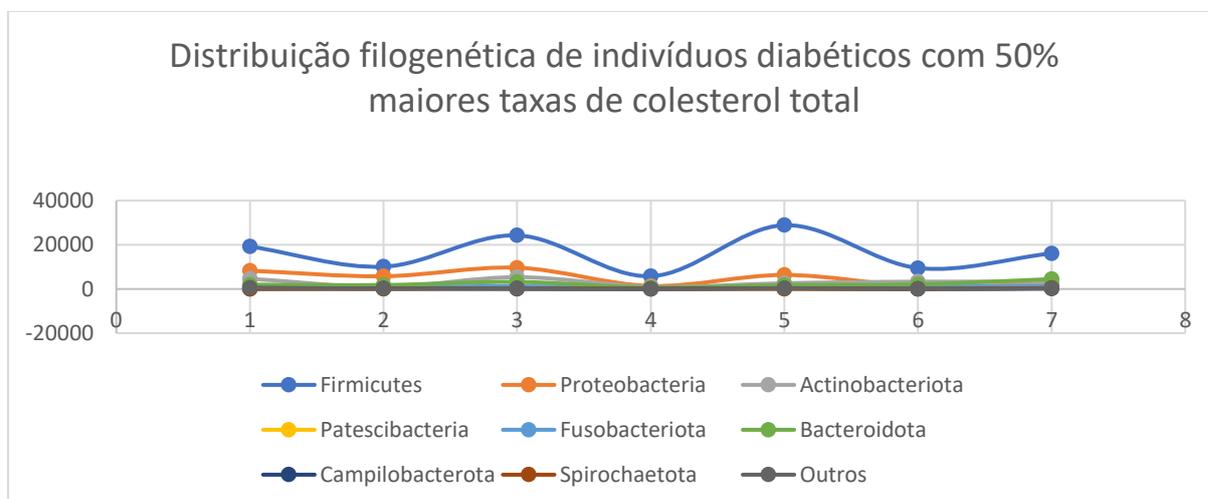
Conforme a tabela 6, dos pacientes diabéticos analisados, ainda que diversos filos apresentem coeficientes de correlação fracos ou moderados, entre  $-0,032$  e  $0,666$ , a hipótese nula foi rejeitada entre *Actinobacteriota* e colesterol LDL e colesterol não HDL, os quais correspondem a um coeficiente de  $-0,640$  e  $-0,666$ , respectivamente. Nesse sentido, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que a taxa de colesterol não HDL e colesterol LDL sobem, existe uma diminuição moderada dos valores de bactérias do filo *Actinobacteriota*.

Gráfico 3 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes



Consoante ao gráfico 3, constata-se que os principais filamentos associados aos pacientes com 50% menores taxas de colesterol total da amostra de indivíduos diabéticos englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 12286; valor máximo: 25669; média: 19114,14), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2316; valor máximo: 10188; média: 5858,29), *Actinobacteriota* (valor mínimo: 2300; valor máximo: 6903; média: 4782,14) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1608; valor máximo: 4062; média: 2784,71), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 51,49% de toda amostra salivar, ao passo que às do filo *Proteobacteria* englobam 19,21% as do filo *Bacteroidota* equivalem à 7,48% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 15,03% da amostra filogenética.

Gráfico 4 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes



Conforme ao gráfico 4, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% maiores taxas de colesterol total da amostra de indivíduos diabéticos englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 5796; valor máximo: 28896; média: 17254,14), *Proteobacteria* (valor mínimo: 1303; valor máximo: 10188; média: 4890,57), *Actinobacteria* (valor mínimo: 961; valor máximo: 6903; média: 2644,71) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 660; valor máximo: 4473; média: 2424,14), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 63,75% de toda amostra salivar, ao passo que as do filo *Proteobacteria* englobam 12,35% as do filo *Bacteroidota* equivalem a 8,2% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 9,3 % da amostra filogenética.

### 3.3. Pacientes com periodontite

Tabela 7 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol de indivíduos com periodontite

Grupos de Colesterol	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	U	P-valor	U	P-valor	U	P-valor
Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol	0	0,002045	0	0,002093	0	0,0005828

Consoante a tabela 7, evidencia-se que o teste de Mann-Whitney apontou a rejeição da hipótese nula ( $p$ -valor  $< 0,05$ ), ou seja, existem evidências estatísticas suficientes para constatar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferem significativamente entre os grupos de indivíduos com periodontite com as 50% maiores taxas e com as 50 % menores taxas de colesterol.

Tabela 8 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com periodontite, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol total

	Periodontite		
	Hipótese nula	P-valor	Decisão
Variáveis independentes	Sangramento à sondagem	0,000	Rejeitar a hipótese nula
	Profundidade de sondagem de 4 mm	0,000	Rejeitar a hipótese nula
	Nível clínico de inserção (3 a 4 mm)	0,000	Rejeitar a hipótese nula
	Leucócitos	0,008	Rejeitar a hipótese nula
	Triglicérides	0,074	Reter a hipótese nula
	Glicemia	0,149	Reter a hipótese nula
	Linfócitos	0,239	Reter a hipótese nula

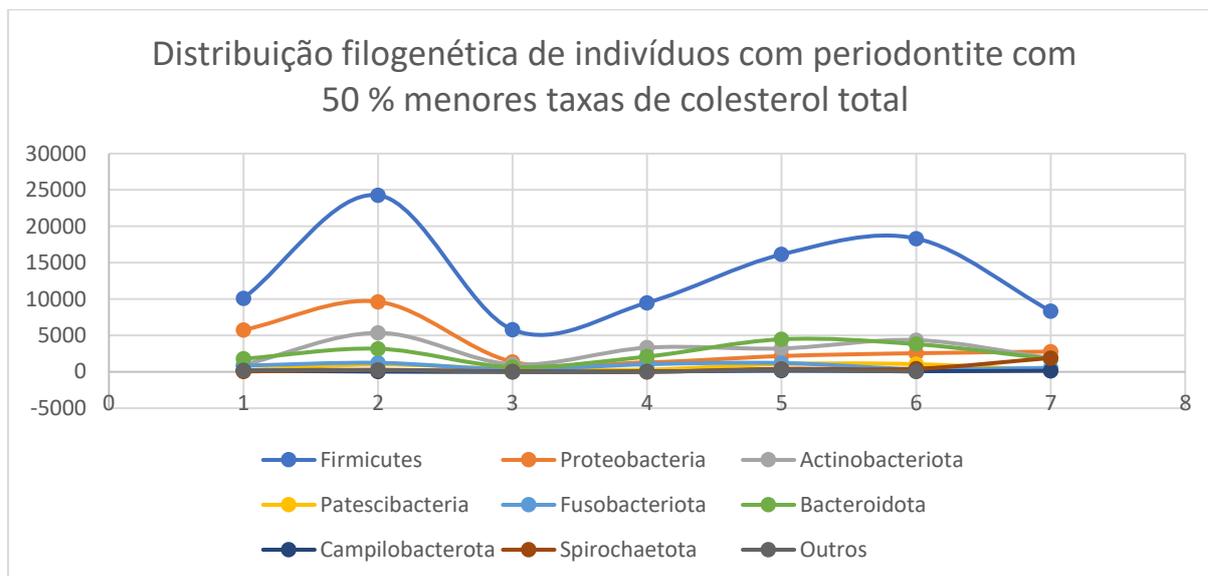
Conforme a tabela 8, evidencia-se que o teste de Kruskal-Wallis rejeitou a hipótese nula referente às variáveis profundidade de sondagem de 4 mm, nível clínico de inserção (3 a 4 mm) e leucócitos, de modo que existem evidências estatísticas suficientes para se afirmar que os valores dos diferentes indicadores periodontais e de inflamação sistêmica testados apresentam variações significativas entre os grupos de pacientes com periodontite, conforme a variável colesterol total.

Tabela 9 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os diferentes tipos de colesterol e os filos da amostra referente aos pacientes com periodontite: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol

Periodontite	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL		Colesterol total	
	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p
Firmicutes	0,385	0,175	-0,520	0,056	-,829**	0,000	-,626*	0,017
Proteobacteria	0,073	0,804	-0,135	0,647	-0,323	0,260	-0,266	0,358
Actinobacteriota	0,011	0,970	-0,351	0,219	-0,358	0,208	-0,380	0,180
Patescibacteria	0,161	0,582	-,553*	0,040	-,613*	0,020	-,648*	0,012
Fusobacteriota	-0,099	0,735	-0,476	0,085	-0,420	0,135	-0,495	0,072
Bacteroidota	0,007	0,982	-0,448	0,108	-0,398	0,159	-0,499	0,069
Campilobacterota	0,150	0,608	-0,130	0,658	-0,191	0,513	-0,156	0,594
Spirochaetota	-0,007	0,982	-0,194	0,506	-0,363	0,203	-0,297	0,303
Mucoromycota	-0,069	0,814	0,173	0,555	0,172	0,557	0,103	0,726
Rotifera	0,341	0,233	-0,282	0,328	-0,516	0,059	-0,328	0,252
Holozoa_ph	-0,163	0,578	-0,135	0,645	-0,119	0,685	-0,199	0,496
Retaria	0,039	0,894	-0,320	0,264	-0,377	0,183	-0,393	0,164
Heterolobosea	0,036	0,902	-0,054	0,854	-0,103	0,727	-0,108	0,714
Diatomea	0,100	0,735	0,012	0,966	-0,113	0,701	-0,058	0,844
Synergistota	-0,248	0,393	0,006	0,984	0,048	0,870	-0,062	0,834
Euglenozoa	0,106	0,719	0,046	0,875	-0,044	0,882	-0,013	0,965
Cyanobacteria	-0,348	0,223	0,063	0,830	0,173	0,554	0,087	0,769
Desulfobacterota	0,120	0,682	0,319	0,266	-0,011	0,970	0,226	0,438
Arthropoda	0,145	0,622	-0,015	0,958	-0,095	0,747	-0,034	0,909

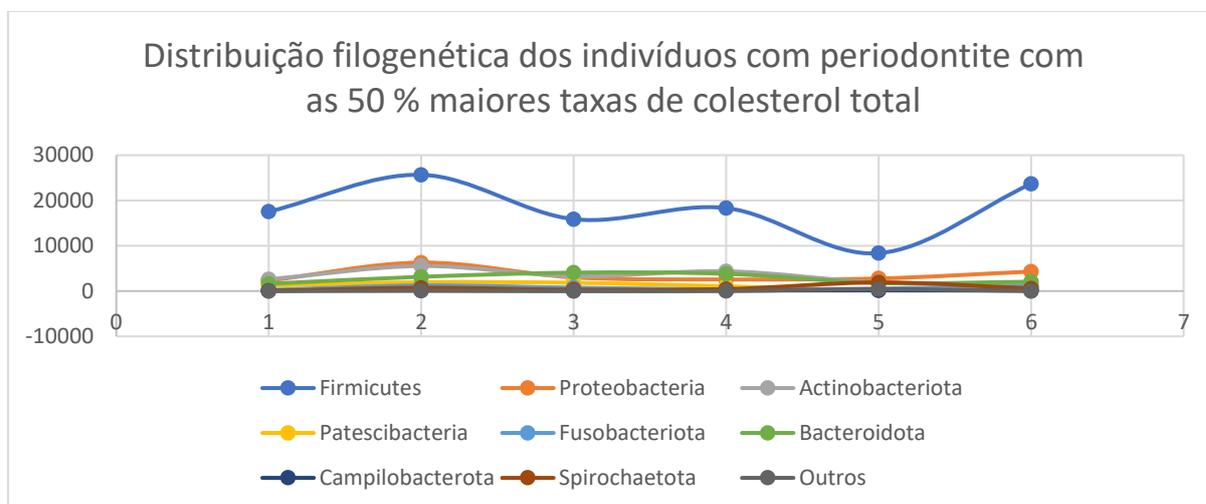
Conforme a tabela 9, dos pacientes com periodontite analisados, ainda que diversos filos apresentem coeficientes de correlação moderados ou fortes, entre -0,42 e -0,829, a hipótese nula só foi rejeitada entre *Firmicutes* e colesterol não HDL e colesterol total; *Patescibacteria* e colesterol LDL, colesterol não HDL e colesterol total. Nesse sentido, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que a taxa de colesterol não HDL e colesterol total sobem, existe uma diminuição moderada dos valores de *Firmicutes* e *Patescibacteria*. Ademais, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que valores de *Patescibacteria* aumentam, ocorre também uma diminuição dos valores de colesterol LDL.

Gráfico 5 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com periodontite



Consoante ao gráfico 5, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% menores taxas de colesterol total da amostra de indivíduos com periodontite englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 15870; valor máximo: 25669; média: 21082.0), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2123; valor máximo: 13598; média: 5580.0), *Actinobacteria* (valor mínimo: 1379; valor máximo: 5525; média: 3523.7) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1608; valor máximo: 4881; média: 2929.4), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 55.8% de toda amostra salivar, ao passo que as do filo *Proteobacteria* englobam 14.7%, as do filo *Bacteroidota* equivalem a 7.8% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 9.3% da amostra filogenética.

Gráfico 6 - Distribuição filogenética de indivíduos com as 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos com periodontite



Consoante ao gráfico 6, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com periodontite com 50% maiores taxas de colesterol da amostra total englobam *Firmicutes* ( valor mínimo: 5796; valor máximo: 28896; média: 15833,5333), *Proteobacteria* (valor mínimo: 1233; valor máximo: 9633; média: 4148), *Actinobacteria* ( valor mínimo: 961; valor máximo: 5525; média: 2834,4) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 180; valor máximo: 1960; média: 684,133333), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 58,97% de toda amostra salivar, ao passo que as do filo *Proteobacteria* englobam 15,42 % as do filo *Bacteroidota* equivalem a 7,64% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 9,51% da amostra filogenética.

### 3.4. Pacientes com diabetes e periodontite

Tabela 10 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas de colesterol de indivíduos com diabetes e periodontite

Grupos de Colesterol	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	U	P-valor	U	P-valor	U	P-valor
Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol	0	0,036	0	0,029	0	0.029

Consoante a tabela 10, evidencia-se que o teste de Mann-Whitney apontou a rejeição da hipótese nula ( $p$ -valor  $<0,05$ ), ou seja, existem evidências estatísticas suficientes para constatar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferem significativamente entre os grupos de pacientes com diabetes e com periodontite com as 50% maiores taxas e com as 50% menores taxas.

Tabela 11 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol

	Diabetes		
	Hipótese nula	P-valor	Decisão
Variáveis independentes	Glicemia	0,386	Reter a hipótese nula
	Nível clínico de inserção de 3 a 4mm	0,773	Reter a hipótese nula
	Profundidade de sondagem de 4mm	0,772	Reter a hipótese nula
	Leucócitos	1,000	Reter a hipótese nula
	Sangramento à sondagem	0,663	Reter a hipótese nula
	Triglicérides	0,564	Reter a hipótese nula
	Linfócitos	0,564	Reter a hipótese nula

Conforme a tabela 11, evidencia-se que o teste de Kruskal-Wallis não rejeitou a hipótese nula referentes a todas as variáveis, de modo que não existem evidências estatísticas suficientes para se afirmar que os valores dos diferentes indicadores periodontais e de inflamação sistêmica testados apresentam variações significativas entre os grupos de pacientes com diabetes e periodontite, conforme a variável colesterol total.

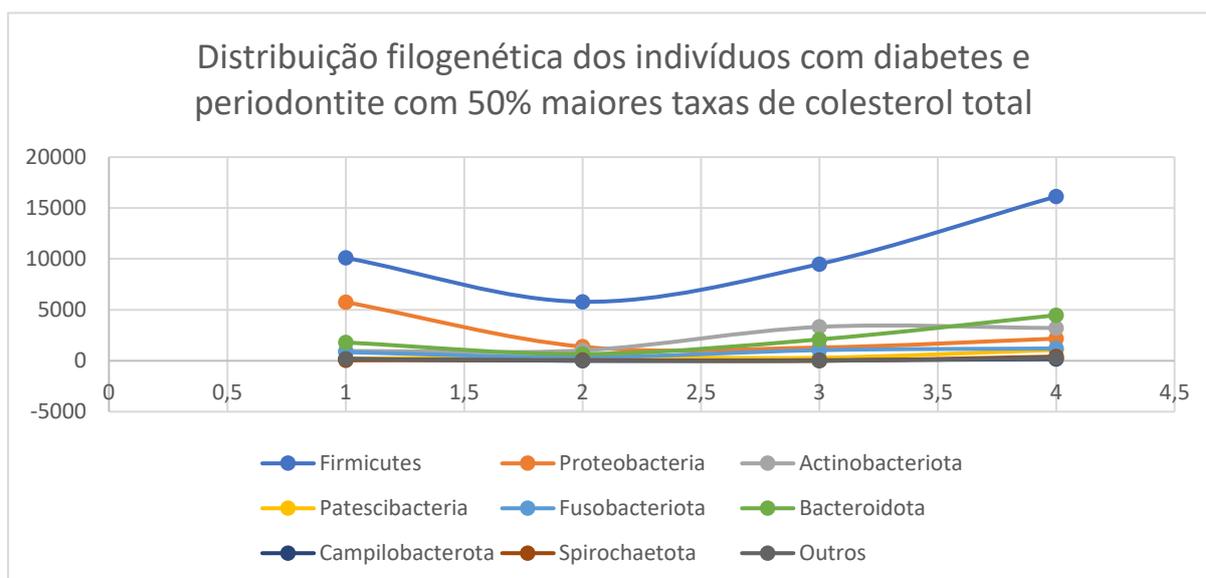
Tabela 12 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a associação entre os diferentes tipos de filo total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol

Diabetes e periodontite	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p
Firmicutes	-0,35	0,4	-0,56	0,15	-0,1	0,82
Proteobacteria	-0,49	0,22	-,719*	0,04	-0,29	0,49
Actinobacteriota	-0,11	0,8	-0,49	0,22	-0,38	0,35
Patescibacteria	0	1	0,11	0,8	0,21	0,61
Fusobacteriota	-0,14	0,73	0	1	0,38	0,35
Bacteroidota	-0,2	0,63	-0,17	0,69	0,12	0,78

Campilobacterota	0,24	0,57	0,47	0,24	0,26	0,53
Spirochaetota	0,04	0,93	-0,12	0,78	0,19	0,65
Mucoromycota	-0,49	0,21	-0,33	0,43	-0,16	0,71
Rotifera	0,08	0,85	0,24	0,56	0,48	0,23
Holozoa_ph	-0,25	0,56	-0,12	0,77	-0,14	0,75
Retaria	-0,05	0,91	0,23	0,59	0,4	0,32
Heterolobosea	-0,55	0,16	-0,23	0,59	-0,08	0,84
Diatomea	-0,49	0,22	-0,04	0,93	0,2	0,63
Synergistota	0,52	0,19	-0,08	0,85	-0,41	0,31
Euglenozoa	-0,39	0,34	-0,17	0,68	0,3	0,47
Desulfobacterota	-0,41	0,31	-0,17	0,69	0,41	0,31
Arthropoda	-0,63	0,09	-0,04	0,92	0,6	0,12

Conforme a tabela 12, dos pacientes analisados com diabetes e periodontite, ainda que diversos filis apresentem coeficientes de correlação moderados ou fortes, entre 0,41 e 0,93, a hipótese nula só foi rejeitada entre *Proteobacteria* e colesterol LDL, que apresenta um coeficiente de -0,719. Nesse sentido, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que a taxa de colesterol LDL sobe, existe uma diminuição moderada dos valores de *Proteobacteria*. Vale ressaltar que ainda que a hipótese nula não tenha sido rejeitada, os coeficientes de correlação para o filo *Synergistota* e *Arthropoda* foram, respectivamente de 0,52 e -0,63, comparados com as taxas de colesterol HDL.

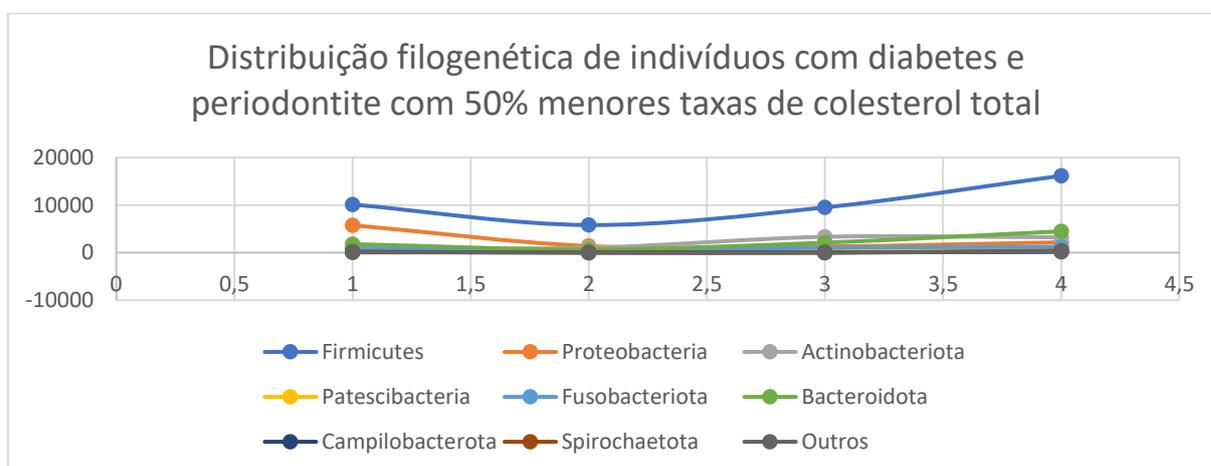
Gráfico 7 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes e periodontite



Consoante ao gráfico 7, constata-se que os principais filis associados aos pacientes com 50% maiores taxas de colesterol total da amostra de pacientes com

diabetes e periodontite englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 10105; valor máximo: 24273; média: 19122,5), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2123; valor máximo: 9633; média: 6451,5), *Actinobacteria* (valor mínimo: 961; valor máximo: 5350; média: 3702,75) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1795; valor máximo: 4881; média: 2954,25), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 52,35% de toda amostra salivar, ao passo que às do filo *Proteobacteria* englobam 17,58%, as do filo *Bacteroidota* equivalem a 8,05% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 10,09% da amostra filogenética.

Gráfico 8 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes e periodontite



Consoante ao gráfico 8, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% menores taxas de colesterol total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 10105; valor máximo: 24273; média: 19650), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2123; valor máximo: 9633; média: 6256,8), *Actinobacteria* (valor mínimo: 961; valor máximo: 6903; média: 4342,8) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1795; valor máximo: 4881; média: 2836,4), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 52,28% de toda amostra salivar, ao passo que as do filo *Proteobacteria* englobam 16,65%, as do filo *Bacteroidota* equivalem a 7,54% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 11,56% da amostra filogenética.

### 3.5. Diabetes sem periodontite

Tabela 13 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol de indivíduos com diabetes sem periodontite

Grupos de Colesterol	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	U	P-valor	U	P-valor	U	P-valor
Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol	6	0,200	6	0,200	6	0,200

Consoante a tabela 13, evidencia-se que o teste de Mann-Whitney não apontou a rejeição da hipótese nula ( $p$ -valor  $<0,05$ ), ou seja, não existem evidências estatísticas suficientes para constatar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferem significativamente entre os grupos de indivíduos diabéticos sem periodontite com as 50% maiores taxas e com as 50 % menores taxas de colesterol.

Tabela 14 - Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para avaliar a associação entre os diferentes tipos de filo total da amostra de indivíduos com diabetes e periodontite: 50 % com maiores taxas dos diferentes tipos de colesterol e 50 % com menores taxas dos diferentes tipos de colesterol

Diabetes sem periodontite	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	Coefficiente de Correlação	Valor de p	Coefficiente de Correlação	Valor de p	Coefficiente de Correlação	Valor de p
Firmicutes	-0,20	0,75	-0,70	0,19	-0,60	0,28
Proteobacteria	0,50	0,39	0,60	0,28	0,50	0,39
Actinobacteriota	0,60	0,28	-0,40	0,50	-0,70	0,19
Patescibacteria	-0,30	0,62	-0,70	0,19	-0,40	0,50
Fusobacteriota	-0,70	0,19	-0,80	0,10	-0,60	0,28
Bacteroidota	-0,40	0,50	-,900*	0,04	-0,70	0,19
Campilobacterota	-0,70	0,19	-0,30	0,62	-0,10	0,87
Spirochaetota	-0,50	0,39	-0,40	0,50	0,00	1,00
Mucoromycota	0,35	0,56	-0,35	0,56	-0,71	0,18
Rotifera	-0,67	0,22	-0,67	0,22	-0,34	0,58
Holozoa_ph	0,67	0,22	0,34	0,58	0,34	0,58
Retaria	-0,70	0,19	-0,80	0,10	-0,60	0,28
Heterolobosea	0,32	0,60	0,53	0,36	0,16	0,80
Diatomea	0,67	0,22	0,34	0,58	0,34	0,58
Synergistota	0,22	0,72	-0,11	0,86	0,11	0,86
Euglenozoa	0,00	1,00	0,70	0,19	0,50	0,39
Desulfobacterota	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
Arthropoda	-0,22	0,72	0,45	0,45	0,45	0,45

Conforme a tabela 14, dos pacientes analisados, ainda que diversos filios apresentem coeficientes de correlação moderados ou fortes, entre 0,4 e 0,9, a hipótese nula só foi rejeitada entre *Bacteroidota* e colesterol LDL, que apresenta um coeficiente de -0,9. Nesse sentido, existem evidências estatísticas para afirmar que

à medida que a taxa de colesterol LDL sobe, existe uma diminuição moderada dos valores de *Bacteroidota*.

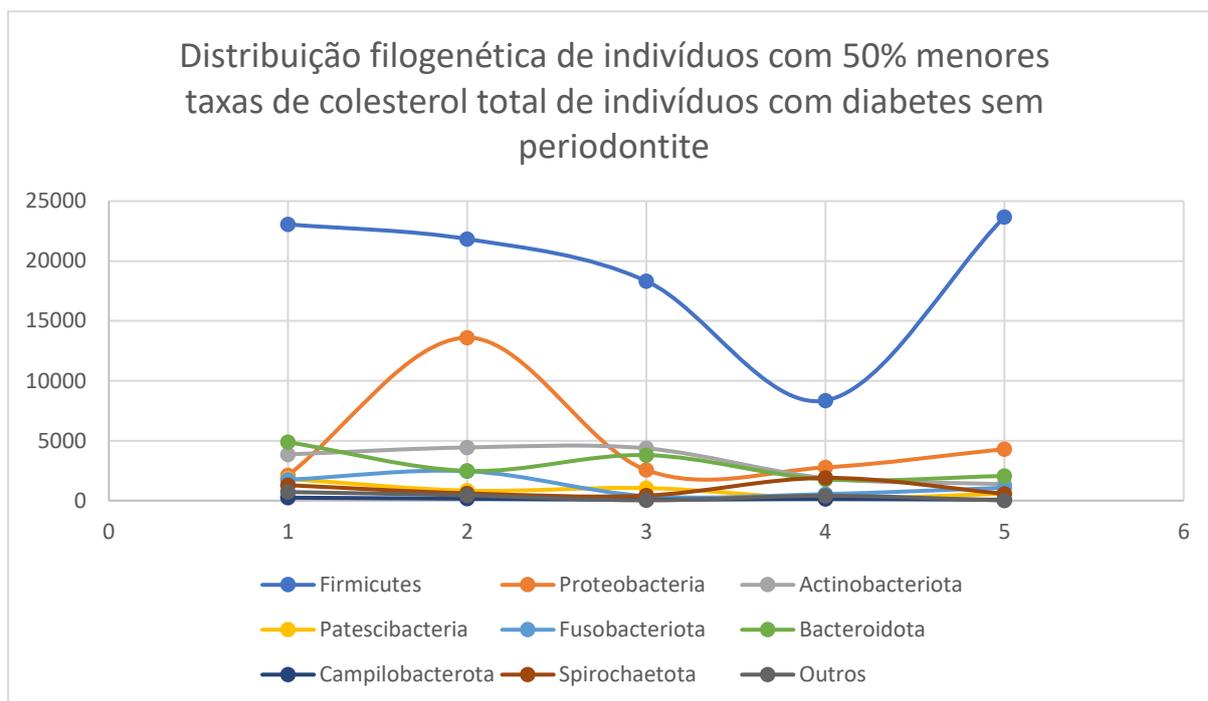
Vale ressaltar que ainda que a hipótese nula não tenha sido rejeitada, os coeficientes de correlação foram de -0,631 e 0,521 para *Synergistota* e *Arthropoda*, respectivamente, comparados com as taxas de colesterol não HDL (coeficiente de 0,6).

Tabela 15 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos com diabetes sem periodontite, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol

Diabetes sem periodontite			
	Hipótese nula	P-valor	Decisão
Variáveis independentes	Glicemia	0,4	Reter a hipótese nula
	Leucócitos	1,000	Reter a hipótese nula
	Triglicérides	0,8	Reter a hipótese nula
	Linfócitos	0,8	Reter a hipótese nula

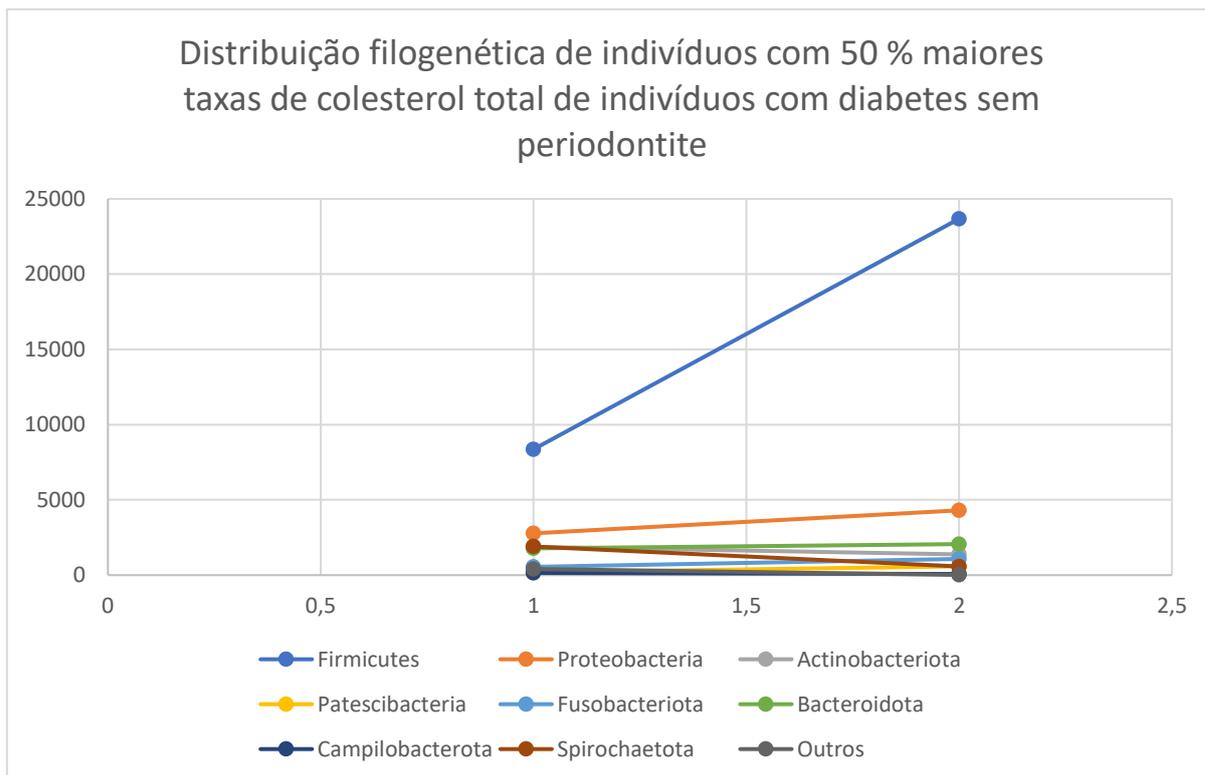
Conforme a tabela 15, evidencia-se que o teste de Kruskal-Wallis não rejeitou a hipótese nula referentes a todas as variáveis, de modo que não existem evidências estatísticas suficientes para se afirmar que os valores dos diferentes de inflamação sistêmica testados apresentam variações significativas entre os grupos de pacientes com diabetes sem periodontite, conforme a variável colesterol total.

Gráfico 9 – Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes sem periodontite



Consoante ao gráfico 9, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% menores taxas de colesterol total da amostra de indivíduos com periodontite sem diabetes englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 8361; valor máximo: 23680; média: 16020,5), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2777; valor máximo: 4304; média: 3540,5), *Actinobacteria* (valor mínimo: 1379; valor máximo: 1880; média: 1629,5) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1778; valor máximo: 2060 ; média: 1919), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 60,53% de toda amostra salivar, ao passo que às do filo *Proteobacteria* englobam 13,37% as do filo *Bacteroidota* equivalem a 7,25 % e as do filo *Actinobacteriota* incluem 6,15% da amostra filogenética.

Gráfico 10 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol total de indivíduos com diabetes sem periodontite



Consoante ao gráfico 10, constata-se que os principais filos associados aos pacientes com 50% maiores taxas de colesterol total da amostra total de indivíduos com diabetes e sem periodontite englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 10105; valor máximo: 23058; média: 17479), *Proteobacteria* (valor mínimo: 2123; valor máximo: 8292; média: 5391), *Actinobacteria* (valor mínimo: 961; valor máximo: 4642; média: 3153,67) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1795; valor máximo: 4881 ; média: 1919), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 46,91% de toda amostra salivar, ao passo que as do filo *Proteobacteria* englobam 14,47% as do filo *Bacteroidota* equivalem a 7,74% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 8,48% da amostra filogenética.

### 3.6. Pacientes saudáveis

Tabela 16 - Resultados do teste de Mann-Whitney para comparação entre as 50% menores e 50 % maiores taxas de colesterol de indivíduos saudáveis

Grupos de Colesterol	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	U	P-valor	U	P-valor	U	P-valor
Comparação entre os grupos de 50%< e 50%> de colesterol	20	0,16	20	0,16	16	0,29

Consoante a tabela 16, evidencia-se que o teste de Mann-Whitney não apontou a rejeição da hipótese nula, ou seja, não existem evidências estatísticas suficientes para constatar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferem significativamente entre os grupos de indivíduos saudáveis com as 50% maiores taxas e com as 50 % menores taxas de colesterol.

Tabela 17 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de colesterol do total da amostra de indivíduos saudáveis, em relação aos indicadores periodontais e os indicadores de inflamação sistêmica: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol

	Pacientes saudáveis		
	Hipótese nula	P-valor	Decisão
Variáveis independentes	Glicemia	0,4	Reter a hipótese nula
	Leucócitos	1,2	Reter a hipótese nula
	Triglicerídeos	0,8	Reter a hipótese nula
	Linfócitos	0,8	Reter a hipótese nula

Conforme a tabela 17, evidencia-se que o teste de Kruskal-Wallis não rejeitou a hipótese nula referentes a todas as variáveis, de modo que não existem evidências estatísticas suficientes para se afirmar que os valores dos diferentes indicadores de inflamação sistêmica testados apresentam variações significativas entre os grupos de pacientes saudáveis, conforme a variável colesterol total.

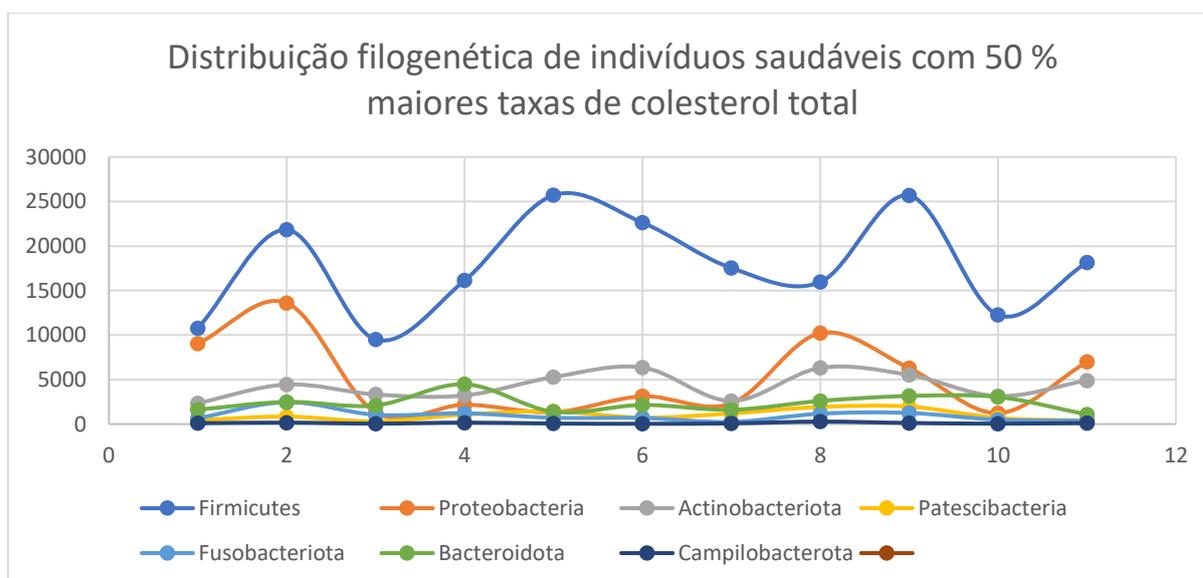
Tabela 18 - Resultados do Teste de Correlação de Spearman para avaliar a associação entre os diferentes tipos de filo total da amostra de indivíduos saudáveis: 50 % com maiores taxas de colesterol e 50 % com menores taxas de colesterol

Saudáveis	Colesterol HDL		Colesterol LDL		Colesterol não HDL	
	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p	Coefficiente	Valor de p
Firmicutes	0,14	0,69	-0,60	0,05	-,812**	0,01
Proteobacteria	-0,41	0,21	-0,27	0,42	-0,32	0,40
Actinobacteriota	-0,06	0,86	-0,32	0,34	-0,58	0,10
Patescibacteria	0,51	0,11	-0,32	0,33	-0,47	0,20
Fusobacteriota	0,33	0,32	-0,51	0,11	-0,65	0,06
Bacteroidota	0,19	0,58	-0,12	0,73	-0,24	0,53
Campilobacterota	-0,36	0,27	-0,59	0,05	-,820**	0,01
Spirochaetota	0,31	0,36	-0,26	0,43	-0,35	0,36
Mucoromycota	-0,07	0,84	-0,35	0,29	-0,50	0,17
Rotifera	*	*	*	*	*	*
Holozoa_ph	-0,50	0,12	-0,25	0,46	0,00	1,00
Retaria	0,01	0,98	-0,11	0,76	0,01	0,97
Heterolobosea	-0,18	0,60	-0,30	0,38	-0,28	0,46
Diatomea	0,00	1,00	-0,10	0,77	-0,28	0,47

Synergistota	0,37	0,26	0,04	0,90	-0,18	0,64
Euglenozoa	-0,10	0,77	0,14	0,68	0,15	0,70
Cyanobacteria	0,34	0,30	0,07	0,84	0,48	0,19
Arthropoda	-0,10	0,77	-0,40	0,22	-0,41	0,27

Conforme a tabela 18, dos pacientes analisados, nota-se que diversos filós apresentem coeficientes de correlação fraca e bem fraca, entre 0,00 e 0,37, houveram coeficientes de correlação moderados e fortes, em relação ao filo *Patescibacteria* (colesterol HDL), *Firmicutes* (colesterol não HDL) e *Campilonacterota* (colesterol não HDL), hipótese nula só foi rejeitada entre *Firmicutes* e colesterol não HDL, que apresenta um coeficiente de -0,812 e entre *Campilonacterota* e o colesterol não HDL, que apresenta um coeficiente de -0,820. Nesse sentido, existem evidências estatísticas para afirmar que à medida que a taxa de colesterol não HDL sobe, existe uma diminuição acentuada dos valores de *Firmicutes* e *Campilonabacterota*. Vale ressaltar que ainda que a hipótese nula não tenha sido rejeitada, os coeficientes de correlação foram de -0,65 e -0,60 para *Fusobacteriota* (colesterol LDL) e *Firmicutes* (colesterol LDL), respectivamente, sendo valores de coeficientes de correlação moderados negativos.

Gráfico 11 - Distribuição filogenética de indivíduos com 50% menores taxas de colesterol total de indivíduos saudáveis





Consoante ao gráfico 12, constata-se que os principais filos associados aos pacientes saudáveis com 50% menores taxas de colesterol total englobam *Firmicutes* (valor mínimo: 8700; valor máximo: 30330; média: 21200,4), *Proteobacteria* (valor mínimo: 1965; valor máximo: 10479; média: 4886,2), *Actinobacteria* (valor mínimo: 1092; valor máximo: 5505; média: 3503,2) e *Bacteroidota* (valor mínimo: 1144; valor máximo: 2857; média: 2307,6), de tal modo que as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* correspondem a 54,80% de toda amostra salivar, ao passo que às do filo *Proteobacteria* englobam 12,63 % as do filo *Bacteroidota* equivalem a 5,97% e as do filo *Actinobacteriota* incluem 9,06% da amostra filogenética.

## 4. ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO TAXONÔMICA

### 4.1. Diagramas de caixas dos principais filos encontrados nas amostras

#### 4.1.1. Firmicutes

Gráfico 13 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total

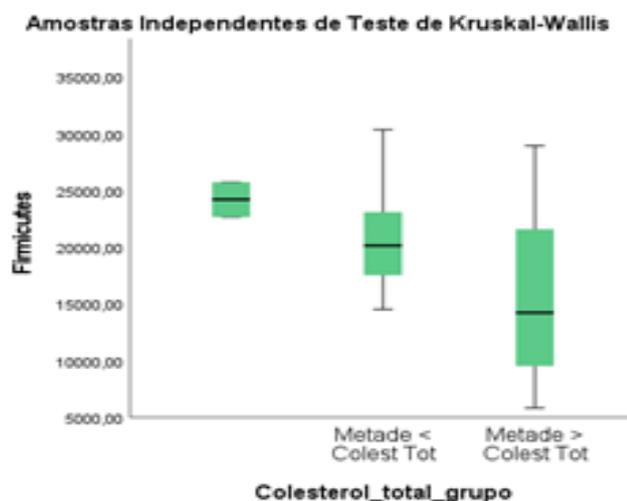


Gráfico 14 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes

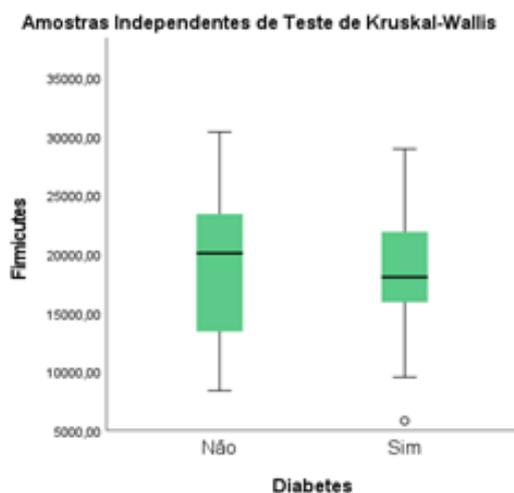
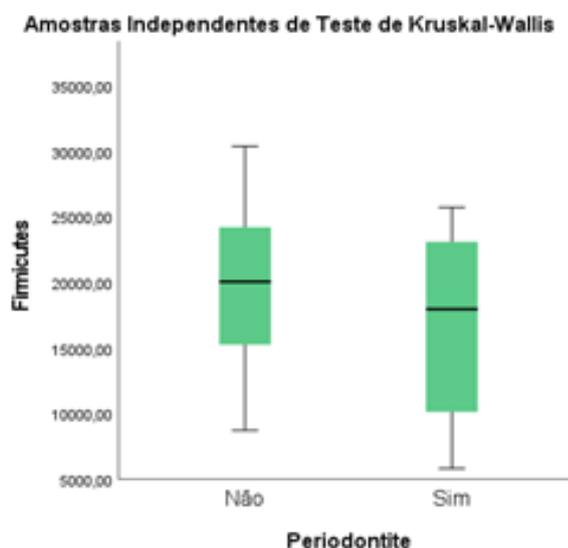


Gráfico 15 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite



Conforme o gráfico 13, evidencia-se que, comparando os diagramas de caixas referentes aos grupos com 50% menores e 50% maiores taxas de colesterol total do total da amostra, as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* contidas nas amostras de saliva coletadas grupos com 50% maiores taxas de colesterol total apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 80000,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 21000,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo com 50% menores taxas de colesterol total, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil simétrico, associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, contudo, que apesar dessa maior homogeneidade, os valores do 1º quartil (aproximadamente 17500,00) e do 2º quartil (aproximadamente 22500,00) do diagrama desse grupo são superiores aos do grupo com 50% maiores taxas de colesterol total. Ambos os grupos não apresentaram valores outliers. Dessa forma, em indivíduos com 50% menores taxas de colesterol, há uma tendência consistente de valores mais homogêneos e superiores de taxas de bactérias do filo *Firmicutes*.

Já em relação aos pacientes diabéticos, quando comparados aos pacientes não diabéticos, conforme ilustrado no gráfico 14, evidencia-se que, em não diabéticos, as bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 14000,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 23000,00) e demonstra um perfil assimétrico negativo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor máximo do diagrama. Todavia, constata-se que pacientes diabéticos, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil assimétrico positivo, associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Apesar dessa maior homogeneidade, o valor do 3º quartil (aproximadamente 22000,00) é superior aos dos não diabéticos e do 1º quartil (aproximadamente 160000,00) é similar ao do 1º quartil do diagrama dos não diabéticos (aproximadamente 14000,00). Entretanto, há valores outliers na amostra dos pacientes diabéticos, o que pode dificultar a interpretação dos resultados.

Em relação aos pacientes com periodontite, conforme o gráfico 15, apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (15000,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 24000,00) e demonstra um perfil assimétrico negativo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor máximo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo de pacientes sem periodontite, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil assimétrico negativo, tendendo a ser simétrico e associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, contudo, que apesar dessa maior homogeneidade, os valores do 1º quartil (aproximadamente 10000,00) e do 2º quartil (aproximadamente 23000,00) do diagrama desse grupo são superiores aos do grupo com periodontite. Ambos os grupos não apresentaram valores outliers. Nesse sentido, pacientes sem periodontite apresentam uma tendência a possuírem valores consistentemente superiores e mais homogêneos de taxas de bactérias do filo *Firmicutes*.

#### 4.1.2. Proteobacteria

Gráfico 16 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total

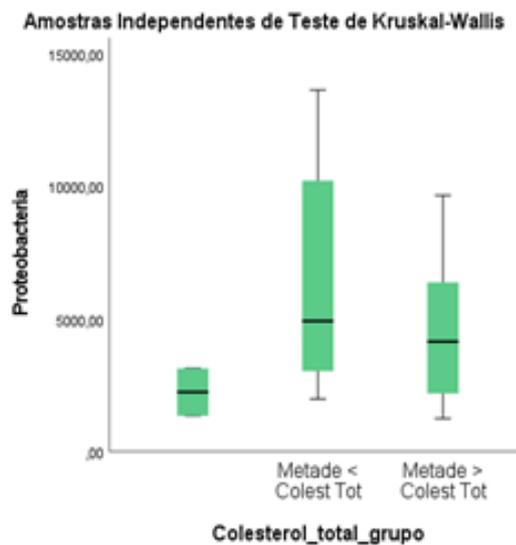


Gráfico 17 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes

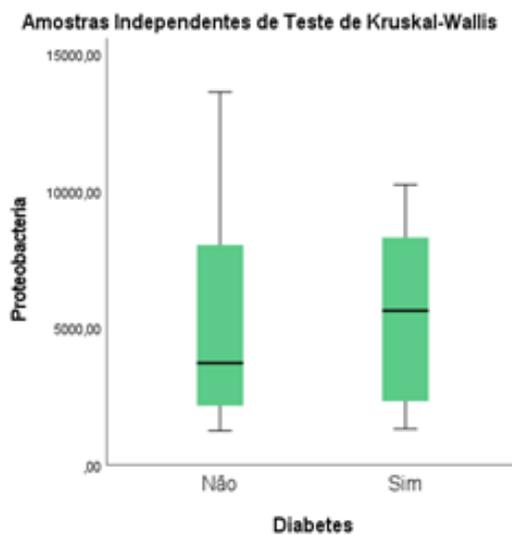
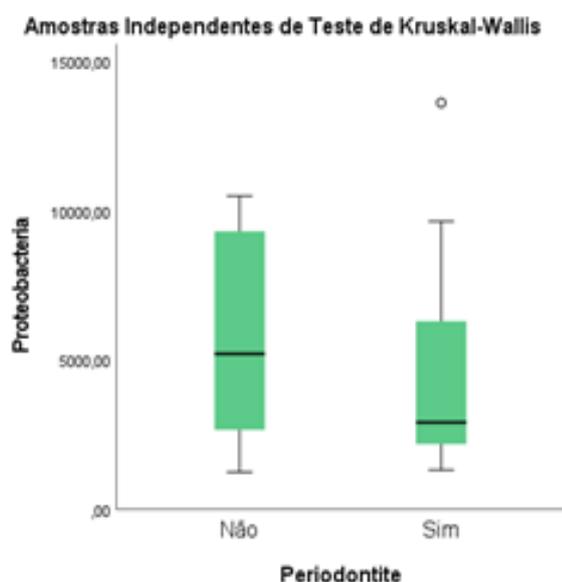


Gráfico 18 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite



Conforme o gráfico 16, evidencia-se que, comparando os diagramas de caixas referentes aos grupos com 50% menores e 50% maiores taxas de colesterol total do total da amostra, as bactérias pertencentes ao filo *Proteobacteria* contidas nas amostras de saliva coletadas grupos com 50% menores taxas de colesterol total apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1° quartil (aproximadamente 2500,00) e ao 3° quartil (aproximadamente 10000,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo com 50% maiores taxas de colesterol total, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil simétrico, associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, ainda, que os valores do 1° quartil (aproximadamente 15000,00) e do 2° quartil (aproximadamente 75000,00) do diagrama desse grupo são inferiores aos do grupo com 50% maiores taxas de colesterol total. Ambos os grupos não apresentaram valores outliers. Dessa forma, em indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol, há uma tendência consistente de valores mais homogêneos e inferiores de taxas de bactérias do filo *Proteobacteria*.

Já em relação aos pacientes diabéticos, quando comparados aos pacientes não diabéticos, conforme ilustrado no gráfico 17, evidencia-se que, em diabéticos, as bactérias pertencentes ao filo *Proteobacteria* apresentam uma relativa uniformidade no intervalo de sua distribuição, em relação aos valores do 1º quartil e do 3º quartil. Todavia, em relação aos valores da mediana, nota-se que pacientes diabéticos apresentam uma mediana de cerca de 35000, enquanto que a mediana dos pacientes não diabéticos de cerca de 6000, demonstrando que o gráfico de caixas dos pacientes diabéticos apresenta um perfil assimétrico negativo e o gráfico de caixas de pacientes não diabéticos apresenta um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo que, evidentemente, os pacientes não diabéticos apresentam uma tendência consistente demonstrarem taxas inferiores de bactérias do filo *Proteobacteria*.

No caso dos pacientes com periodontite, evidencia-se uma menor variabilidade no intervalo de sua distribuição, no gráfico 18, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 10000,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 24000,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. O diagrama de caixa do grupo de pacientes sem periodontite apresenta um perfil assimétrico positivo, com uma maior variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, contudo, que apesar dessa menor homogeneidade, os valores do 1º quartil (aproximadamente 15000,00) e do 2º quartil (2200,00) do diagrama desse grupo são superiores aos do grupo com periodontite. Além disso, o valor da mediana do grupo dos pacientes sem periodontite (aproximadamente 2000,00) é superior ao grupo dos pacientes com periodontite (aproximadamente 1800,00). Assim, há uma clara tendência de pacientes sem periodontite apresentarem uma tendência a possuírem valores consistentemente superiores de taxas de bactérias do filo *Proteobacteria*.

#### 4.1.3. Actinobacteriota

Gráfico 19 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total

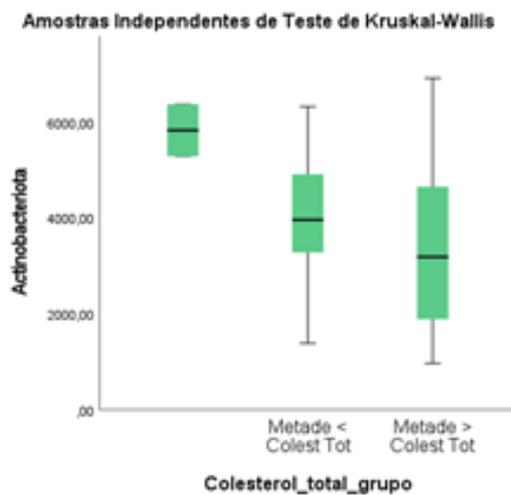
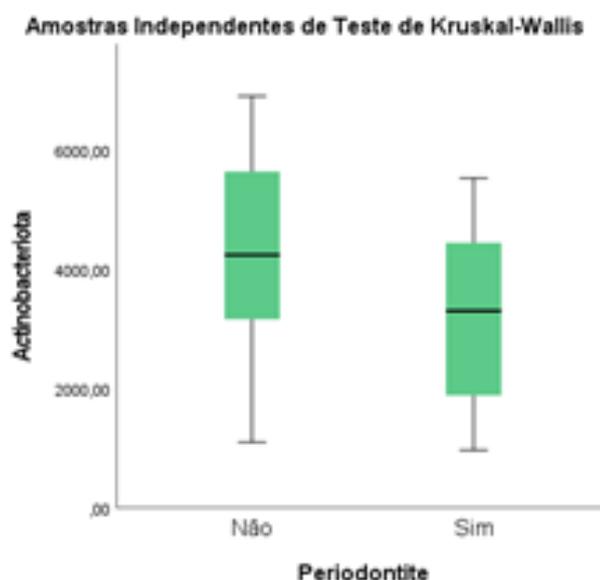


Gráfico 20 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes



Gráfico 21 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite



Conforme o gráfico 19, evidencia-se que, comparando os diagramas de caixas referentes aos grupos com 50% menores e 50% maiores taxas de colesterol total do total da amostra, as bactérias pertencentes ao filo *Actinobacteriota* contidas nas amostras de saliva coletadas grupos com 50% menores taxas de colesterol total apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 3000,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 5000,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo com 50% maiores taxas de colesterol total, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil relativamente simétrico, associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, ainda, que os valores do 1º quartil (aproximadamente 1800) e do 2º quartil (aproximadamente 3000,00) do diagrama desse grupo são inferiores aos do grupo com 50% menores taxas de colesterol total. Ambos os grupos não apresentaram valores outliers. Dessa forma, em indivíduos com 50% maiores taxas de colesterol, há uma tendência consistente de valores mais homogêneos e inferiores de taxas de bactérias do filo *Actinobacteriota*.

Já em relação aos pacientes diabéticos, quando comparados aos pacientes não diabéticos, conforme ilustrado no gráfico 20, evidencia-se que, em diabéticos, as bactérias pertencentes ao filo *Actinobacteriota* apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação aos valores do 1º quartil e do 3º quartil. Todavia, em relação aos valores da mediana, nota-se que pacientes diabéticos apresentam uma mediana de cerca de 3000, enquanto que a mediana dos pacientes não diabéticos é de cerca de 4000, demonstrando que o gráfico de caixas dos pacientes diabéticos apresenta um perfil assimétrico positivo e o gráfico de caixas de pacientes não diabéticos apresenta um perfil assimétrico negativo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo que, evidentemente, os pacientes diabéticos apresentam uma tendência consistente demonstrarem taxas inferiores de bactérias do filo *Actinobacteriota*.

Conforme o gráfico 21, evidencia-se que, comparando os diagramas de caixas referentes aos grupos dos pacientes com periodontite com 50% menores e 50% maiores taxas de colesterol total do total da amostra, as bactérias pertencentes ao filo *Actinobacteriota* contidas nas amostras de saliva coletadas grupos com 50% maiores taxas de colesterol total apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 3000,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 5000,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo com 50% menores taxas de colesterol total, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil mais simétrico, associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, contudo, que apesar dessa maior homogeneidade, o valor do 3º quartil (aproximadamente 4500,00) do diagrama desse grupo é superior ao do grupo com 50% maiores taxas de colesterol total e a mediana apresenta um valor menor (aproximadamente 3000,00). Ambos os grupos não apresentaram valores outliers. Dessa forma, em indivíduos com periodontite com 50 % menores taxas de colesterol total, há uma tendência consistente de valores mais homogêneos e superiores de taxas de bactérias do filo *Actinobacteria*.

#### 4.1.4. Bacteroidota

Gráfico 22 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável colesterol total: 50 % menores taxas e 50 % maiores taxas de colesterol total

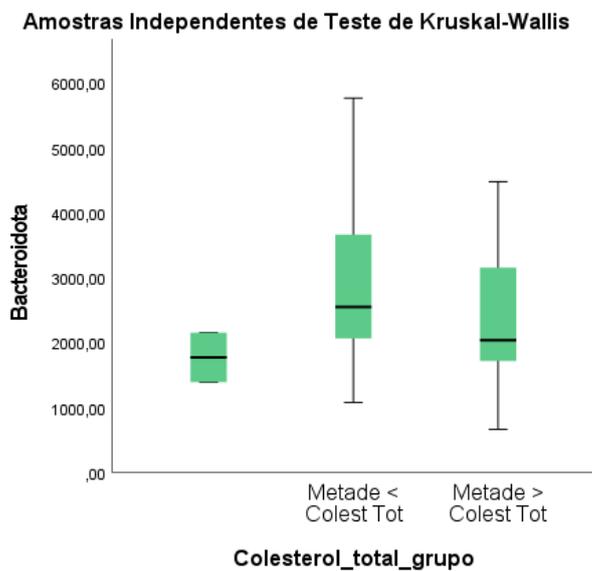


Gráfico 23 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável diabetes

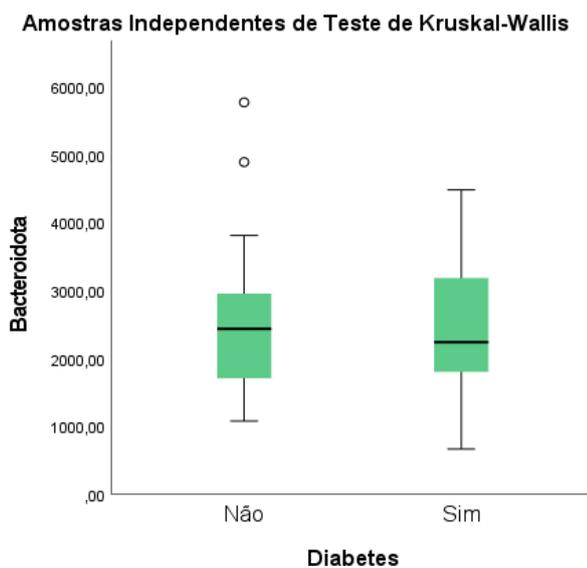
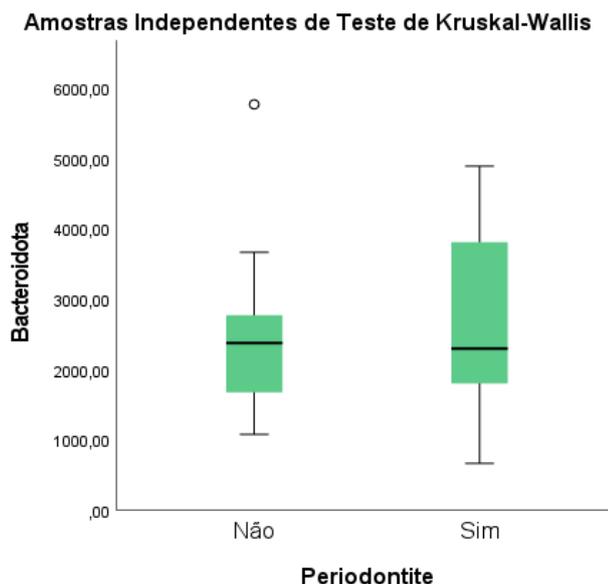


Gráfico 24 – Diagramas de caixas referentes à distribuição da amostra total, conforme a variável periodontite



Conforme o gráfico 22 , evidencia-se que, comparando os diagramas de caixas referentes aos grupos com 50% menores e 50% maiores taxas de colesterol total do total da amostra, as bactérias pertencentes ao filo *Bacteroidota*, pertencentes às amostras de saliva coletadas grupos com 50% maiores taxas de colesterol total apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1° quartil (aproximadamente 2100,00) e ao 3° quartil (aproximadamente 3700,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo com 50% menores taxas de colesterol total, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil assimétrico, associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, contudo, que apesar dessa menor variabilidade, os valores do 1° quartil (aproximadamente 1800,00) e do 3° quartil (aproximadamente 3500,00) do diagrama desse grupo são menos homogêneos, em relação ao do grupo com 50% maiores taxas de colesterol total. Ambos os grupos não apresentaram valores outliers. Dessa forma, em indivíduos com 50 % menores taxas de colesterol, há uma tendência consistente de valores menores, mais heterogêneos e com maior variabilidade de taxas de bactérias do filo *Bacteroidota*.

Já em relação aos pacientes diabéticos, quando comparados aos pacientes não diabéticos, conforme ilustrado no gráfico 23, evidencia-se que, em não diabéticos, as bactérias pertencentes ao filo *Bacteroidota* apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 1800,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 3400,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Todavia, constata-se que pacientes diabéticos, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil assimétrico negativo, associado a uma maior variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Apesar dessa maior heterogeneidade, o valor do 1º quartil (aproximadamente 1700,00) e do 3º quartil (aproximadamente 2700,00) dos não diabéticos é superior aos dos diabéticos, apesar de que o valor do 1º quartil é similar ao do 1º quartil do diagrama dos diabéticos (aproximadamente 1900,00). Entretanto, há valores outliers na amostra dos pacientes diabéticos, o que pode dificultar a interpretação dos resultados.

Em relação aos pacientes com periodontite, conforme o gráfico 24, apresentam uma maior variabilidade no intervalo de sua distribuição, em relação ao 1º quartil (aproximadamente 1700,00) e ao 3º quartil (aproximadamente 4000,00) e demonstra um perfil assimétrico positivo, em relação ao conjunto de dados, de tal modo a apresentar uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama. Em contrapartida, constata-se que o diagrama de caixa do grupo de pacientes sem periodontite, em relação ao conjunto de dados, apresenta um perfil assimétrico positivo, tendendo e associado a uma menor variabilidade no intervalo entre os valores extremos. Vale pontuar, contudo, que apesar dessa menor homogeneidade, os valores do 1º quartil (aproximadamente 1700,00) e do 2º quartil (aproximadamente 23000,00) do diagrama desse grupo são menores, em relação ao grupo com periodontite. Entretanto, há valores outliers na amostra dos pacientes sem periodontite, o que pode dificultar a interpretação dos resultados. Nesse sentido, pacientes sem periodontite apresentam uma tendência a possuírem valores consistentemente menores e mais homogêneos de taxas de bactérias do filo *Bacteroidota*.

## 5. Análise descritiva das taxas de células sanguíneas dos pacientes incluídos no estudo

Tabela 19 - Análise dos exames laboratoriais referentes às concentrações de células imunológicas e plaquetas

	Grupo	Leucócitos (mm <sup>3</sup> )	Monócitos(mm <sup>3</sup> )	Linfócitos(mm <sup>3</sup> )	Plaquetas(1000/mm <sup>3</sup> )
Amostra	Saudáveis	10	10	10	10
	Diabetes	5	5	5	5
	DMP	9	9	9	9
	Periodontite	5	5	5	5
Excluídos da amostra	Saudáveis	1	1	1	1
	Diabetes	0	0	0	0
	DMP	0	0	0	0
	Periodontite	0	0	0	0
Média	Saudáveis	5865	474	2153	258
	Diabetes	6410	458	8246	253
	DMP	7870	586	2612	269
	Periodontite	7500	593	2493	245
Mediana	Saudáveis	5630	451	2169	276
	Diabetes	6330	411	2215	250
	DMP	7430	648	2550	270
	Periodontite	7000	611	2380	234
Desvio padrão	Saudáveis	11	180	608	44,7
	Diabetes	1961	108	13924	61,5
	DMP	1584	122	822	57
	Periodontite	2164	145	663	40,5

Para análise dos exames laboratoriais referentes às concentrações de células imunológicas e plaquetas, foram-se incluídos 5 diabéticos, 11 indivíduos do saudáveis, 9 diabéticos com periodontite (referidos na tabela 19 como DMP) e 5 indivíduos não diabéticos com periodontite. Consoante a tabela 19, nota-se que os diabéticos com periodontite, em relação aos não diabéticos com periodontite, apresentaram maiores concentrações relativas de leucócitos (cerca de 4,9 % maior), linfócitos (cerca de 7,14 % maior), monócitos (cerca de 1,19% maior) e plaquetas (cerca de 9,7 % maior). Os pacientes diabéticos com periodontite, em relação aos diabéticos sem periodontite, apresentaram maiores concentrações relativas de leucócitos (cerca de 22,7 % maior), de monócitos (cerca de 27,9% maior) e plaquetas (cerca de 6,32% maior), porém apresentaram menores concentrações relativas de linfócitos (cerca de 215,6 % menor).

## 6. DISCUSSÕES

Foi possível ratificar que os valores totais referentes aos três tipos de colesterol diferiram significativamente entre os pacientes da amostra total, com as 50% maiores taxas e com as 50% menores taxas. Todavia, pacientes diabéticos sem periodontite e pacientes saudáveis não apresentaram diferença estatística significativa entre os valores totais referentes aos três tipos de colesterol. Destarte, os achados desse estudo indicam um padrão, em que pacientes saudáveis e pacientes diabéticos sem periodontite, tendem a apresentar valores mais homogêneos dos diferentes tipos de colesterol, já que não houve diferença significativa entre as taxas deles. Tal fato pode ser explicado, em função desses pacientes apresentarem valores sistêmicos menores de colesterol, mais compatíveis com níveis menores de inflamação local e sistêmica, impactando na dimensão da diferença estatística entre os diferentes níveis de colesterol.

Foi possível constatar que as taxas de colesterol total não variaram significativamente, conforme os indicadores periodontais e de inflamação sistêmica, considerando as análises envolvendo os pacientes da amostra total e pacientes diabéticos com e sem periodontite e pacientes saudáveis. Porém, os indicadores dos exames laboratoriais associados à inflamação sistêmica e indicadores periodontais de indivíduos diabéticos (glicemia, nível clínico de inserção de 3 a 4 mm e profundidade de sondagem de 4 mm), de indivíduos com periodontite (sangramento à sondagem, profundidade de sondagem de 4 mm, nível clínico de inserção de 3 a 4 mm e leucócitos) foram associadas a maiores concentrações de colesterol total (importante indicador de maiores níveis de inflamação sistêmica e de maior risco de síndrome metabólica e a bacteremias), sendo um achado compatível com modelos de estudo experimentais envolvendo animais e seres humanos, os quais indicam que alterações nos níveis de colesterol em diabéticos estão amplamente associadas a distúrbios no metabolismo de lipídeos, em função da resistência à insulina, ocorre aumento das lipoproteínas transportadoras de triglicerídeos, dos quilomícrons e das lipoproteínas de muito baixa densidade, seja pelo aumento do fluxo de ácidos graxos livres, seja pela degradação prejudicada de VLDL e a redução da depuração de quilomícrons[10,38].

Compreende-se que essa anormalidade no metabolismo de lipídios associada à diabetes permite o acúmulo de colesterol em macrófagos e em outras células imunes, o aumento na produção e na ativação de receptores do tipo Toll (TLR), a proliferação de monócitos e neutrófilos provenientes do baço e da medula óssea,

bem como o aumento na produção de citocinas (interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-1 alfa ( IL-1 $\alpha$  ), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8( IL-8) e quimiocinas, o que exacerba mecanismos da resposta inflamatória sistêmica [10,21,32]. Ademais, em relação aos pacientes com periodontite, o achado também é compatível com as evidências mais atuais, uma vez que parece haver uma relação bidirecional entre periodontite e a hipercolesterolemia, já que alterações nos níveis de colesterol plasmáticos, por influenciarem a resposta inflamatória do hospedeiro, podem estar potencialmente relacionadas aos processos disbióticos nos biofilmes orais [14,16,25,26]. Nesse ínterim, haja vista que os indivíduos com diabetes e/ou periodontite predominaram numericamente na amostra total de pesquisa, então, evidentemente, esses pacientes apresentaram maior representação estatística nos testes de hipóteses utilizados, o que, potencialmente, explica o fato de os indicadores dos exames laboratoriais associados à inflamação sistêmica da amostra total terem sido associados a maiores taxas de colesterol total.

Em relação aos diabéticos com periodontite da amostra estudada, o grupo com taxas 50 % menores de colesterol HDL apresentou volume similar ao do grupo de taxas 50 % maiores, considerando os filos *Firmicutes* e *Proteobacteria*, o que se inverte, em relação aos demais filos. O grupo com maiores taxas de colesterol LDL (importante indicador de maiores níveis de inflamação sistêmica, potencialmente agravando a periodontite) apresentou um volume consideravelmente superior dos filos *Actinobacteriota* e *Bacteroidota*. Estudos prévios evidenciam que microbioma subgengival associado à saúde é caracterizado por uma maior abundância de *Firmicutes*, já o microbioma subgengival associado à periodontite apresenta uma maior abundância de *Bacteroidota*, *Desulfobacterota*, *Fusobacteriota*, *Spirochaeta*, *Synergistota* e *Chloroflexi* [39,40]. Dessa forma, é possível que maiores taxas de colesterol HDL estejam associadas a um microbioma compatível com saúde periodontal, porém mais estudos precisam ser realizados para investigar essa hipótese.

Houve uma correlação negativa entre os níveis de colesterol LDL e a abundância do filo *Proteobacteria*, em indivíduos com diabetes e periodontite ( $p = 0.719$ ,  $p = 0.045$ ). Estudos prévios indicam que maiores taxas de *Proteobacteria* são associadas à saúde periodontal [32, 41]. Nesse sentido, é possível que o colesterol LDL esteja associado a presença de um microbioma mais disbiótico para periodontite, já que é correlacionado negativamente com a abundância de *Proteobacteria*.

Em relação à amostra total analisada nessa pesquisa, houve correlação de spearman significativa entre os filos *Firmicutes* e colesterol LDL, *Actinobacteriota* e colesterol LDL, *Fusobacteriota* e colesterol LDL, *Firmicutes* e colesterol não HDL, *Actinobacteriota* e colesterol não HDL, *Fusobacteriota* e colesterol não HDL, *Campilobacterota* e colesterol não HDL e *Bacteroidota* e colesterol não HDL. Esse achado é compatível com estudos prévios na literatura, os quais indicam que em pacientes com indicadores alterados de inflamação sistêmica e local apresentavam os seguintes filos dominantes em amostras de biofilme oral (*Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* e *Actinobacteria*) [42,43]. Porém, os estudos apontam que, apesar de o filo *Proteobacteria* ser considerado um dos dominantes, há uma clara diminuição significativa da proporção de bactérias do filo *Proteobacteria*, em relação aos níveis de colesterol, colaborando para explicar a correlação negativa encontrada entre bactérias desse filo e o colesterol LDL, no grupo de pacientes diabéticos com periodontite do presente estudo.

Concomitantemente a tal achado, ao analisar os diagramas de caixa referentes às 50% menores e maiores taxas de colesterol total entre os três subgrupos comparados (amostra total, diabetes e periodontite), notou-se que pacientes com 50% menores taxas e com periodontite tendiam a apresentar valores consistentemente superiores e mais homogêneos de taxas de bactérias do filo *Firmicutes*, o que é consistente com a correlação negativa de spearman encontrada entre taxas de colesterol e as taxas de bactérias do filo *Firmicutes*. Ademais, constatou-se que indivíduos com 50 % menores taxas de colesterol e sem periodontite, tendiam a apresentar valores consistentemente mais homogêneos e superiores de taxas de bactérias do filo *Proteobacteria*, em consonância com os resultados encontrados, a partir da análise de correlação de postos de spearman realizada. Porém, vale salientar que no gráfico de caixas referente ao grupo de pacientes com periodontite houve valores outliers, que distorcem os valores de média considerados. Além disso, notou-se que houve uma tendência de valores superiores de taxas de bactérias do filo *Actinobacteria* em indivíduos com 50 % menores taxas de colesterol e em pacientes não diabéticos, sendo um achado compatível com os resultados encontrados na análise de correlação realizada. Em relação aos diagramas de caixas referentes às 50% menores e maiores taxas de colesterol total entre os três subgrupos comparados (amostra total, diabetes e periodontite), notou-se que pacientes com 50% menores, há uma tendência

consistente de valores menores, mais heterogêneos e com maior variabilidade de taxas de bactérias do filo *Bacteriodota*. Em pacientes com periodontite, há uma clara tendência de possuírem valores consistentemente menores e mais homogêneos de taxas de bactérias desse filo.

Em relação aos diagramas de caixa referentes às 50% menores e maiores taxas de colesterol total entre os três subgrupos comparados (amostra total, diabetes e periodontite) do filo *Bacteriodota*, notou-se que em indivíduos da amostra total com 50 % menores taxas de colesterol, há uma tendência consistente de valores menores, mais heterogêneos e com maior variabilidade de taxas de bactérias do filo *Bacteriodota*, o que é consistente com a correlação negativa de Pearson encontrada entre o colesterol total e as taxas de bactérias do filo *Bacteriodota* no grupo de pacientes com periodontite. Ademais, pacientes sem periodontite apresentam uma tendência a possuírem valores consistentemente menores e mais homogêneos de taxas de bactérias do filo *Bacteriodota*. Entretanto, há valores outliers na amostra dos pacientes sem periodontite, o que pode dificultar a viabilidade interna e externa dos resultados. Já em relação aos pacientes diabéticos, quando comparados aos pacientes não diabéticos, evidencia-se uma maior variabilidade no intervalo de distribuição das bactérias do filo *Bacteriodota*, com uma mediana tendendo mais ao valor mínimo do diagrama, o que é compatível com os valores negativos dos coeficientes de Pearson, em relação aos colesteróis LDL e não HDL.

Ademais, foi-se possível notar que, em indivíduos com diabetes, a periodontite foi associada a uma maior concentração de leucócitos, monócitos e plaquetas, porém houve uma diminuição na concentração de linfócitos considerável (cerca de 215,6 % menor), o qual é um achado não compatível com evidências de modelos de estudos experimentais na literatura envolvendo animais e seres humanos diabéticos, os quais apontam que o microbioma oral disbiótico característico da periodontite, em diabéticos, induz a um perfil de resposta imunológica local (na região da cavidade oral e no baço) predominantemente adaptativo e na produção de mediadores da inflamação sistêmica, agravando a diabetes, havendo uma menor abundância relativa de monócitos e macrófagos e um aumento dos níveis de linfócitos CD4+ T Th17 (fenótipo de linfócitos CD4+, que expressam IL17R), desregulando equilíbrio Th17/Treg, o qual é crucial para prevenir a ativação imunológica excessiva, respostas autoimunes e patogênese da síndrome metabólica[21,44,45]. Vale salientar, entretanto, que o desvio padrão nos resultados

laboratoriais referentes às concentrações de linfócitos foi significativamente elevado e a amostra de diabéticos com periodontite analisados foi muito reduzida, o que pode explicar a divergência dos resultados encontrados com evidências presentes na literatura.

Já em relação aos indivíduos com periodontite, notou-se que a diabetes foi associada a uma maior concentração de leucócitos, linfócitos, monócitos e plaquetas, não sendo um achado compatível com modelos de estudos experimentais na literatura envolvendo animais e seres humanos diabéticos, os quais apontam que a diabetes está associada a uma disfunção da resposta imune adaptativa, havendo várias evidências de que diabéticos possuem proliferação, maturação e ativação insuficiente de linfócitos, bem como defeitos nos receptores do sistema complemento e nos receptores Fcy em monócitos isolados, resultando em comprometimento da atividade fagocítica e da proliferação de monócitos e macrófagos, causando uma disfunção no sistema mononuclear fagocitário relacionada à redução da capacidade glicolítica e da reserva de macrófagos após a exposição de longo prazo a altos níveis de glicose[46,47,48]. Vale pontuar, contudo, que a divergência dos resultados encontrados com evidências presentes na literatura pode ser explicada, em função do reduzido tamanho da amostra e do desvio padrão considerável dos indivíduos com periodontite incluídos nas análises dos resultados laboratoriais.

## 7. CONCLUSÕES

Foi encontrado um padrão taxonômico no microbioma salivar compatível com estudos prévios, porém o presente estudo apresentou um caráter inovador, no sentido de ter analisado e descrito detalhadamente o perfil estatístico de distribuição filogenética de amostras de saliva de pacientes de um hospital universitário. É imperativo salientar que esse estudo, apesar de ter evidenciado achados relevantes, apresentou uma série de limitações, tais como viés de seleção, viés de informação/aferição e viés de população, os quais são comuns às limitações sistemáticas das metodologias de estudos observacionais transversais [49]. Além disso, houve limitações na validade interna e externa dos resultados estatísticos encontrados, uma vez que houve valores outliers, amostras ímpares em certos grupos e dados ausentes de alguns pacientes, justificando a exclusão desses pacientes em algumas análises estatísticas. Dessarte, é imperativo a realização de estudos com qualidade de evidência mais sofisticados, para possibilitar conclusões mais realistas e clinicamente aplicáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S159-S172. doi: 10.1002/JPER.18-0006. Erratum in: *J Periodontol*. 2018 Dec;89(12):1475. PMID: 29926952.
2. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Giannobile WV, Graziani F, Greenwell H, Herrera D, Kao RT, Kerschull M, Kinane DF, Kirkwood KL, Kocher T, Kornman KS, Kumar PS, Loos BG, Machtei E, Meng H, Mombelli A, Needleman I, Offenbacher S, Seymour GJ, Teles R, Tonetti MS. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S173-S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721. PMID: 29926951.
3. Genco, R. J.; Sanz, M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontology 2000*, v. 83, n. 1, p. 7–13, 8 maio 2020.
4. Tall AR, Yvan-Charvet L. Cholesterol, inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2015 Feb;15(2):104-16. doi: 10.1038/nri3793. PMID: 25614320; PMCID: PMC4669071.
5. Marsh, P. D.; Zaura, E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 44, p. S12–S22, mar. 2017. Disponível em < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28266111/>>.

6. Kapila YL. Oral health's inextricable connection to systemic health: Special populations bring to bear multimodal relationships and factors connecting periodontal disease to systemic diseases and conditions. *Periodontol 2000*. 2021 Oct;87(1):11-16. doi: 10.1111/prd.12398. PMID: 34463994; PMCID: PMC8457130.
7. Chukkapalli SS, Velsko IM, Rivera-Kweh MF, Zheng D, Lucas AR, Kesavalu L. Polymicrobial Oral Infection with Four Periodontal Bacteria Orchestrates a Distinct Inflammatory Response and Atherosclerosis in ApoE null Mice. *PLoS One*. 2015 Nov 30;10(11):e0143291. doi: 10.1371/journal.pone.0143291. PMID: 26619277; PMCID: PMC4664240.
8. Rivera MF, Lee J-Y, Aneja M, Goswami V, Liu L, Velsko IM, et al. Polymicrobial infection with major periodontal pathogens induced periodontal disease and aortic atherosclerosis in hyperlipidemic ApoE(null) mice. *PLoS ONE*. 2013;8(2):e57178 10.1371/journal.pone.0057178
9. Chukkapalli SS, Rivera MF, Velsko IM, Lee J-Y, Chen H, Zheng D, Bhattacharyya I, et al. Invasion of Oral and Aortic Tissues by Oral Spirochete *Treponema denticola* in ApoE<sup>-/-</sup> Mice Causally Links Periodontal Disease and Atherosclerosis. *Infect and Immun*.2014. 82:1959–1967.
10. Kerner W, Brückel J; German Diabetes Association. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014 Jul;122(7):384-6. doi: 10.1055/s-0034-1366278. Epub 2014 Jul 11. PMID: 25014088.
11. ALMEIDA, A. K. et al. Doença cárie em portadores de diabetes mellitus: uma revisão narrativa da literatura. *Oral Sciences*, v. 9, n. 1, p. 18–23, 23 out. 2019. Disponível em: <  
<https://portalrevistas.ucb.br/index.php/oralsciences/article/view/11131> >.
12. Løe, H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, v. 16, n. 1, p. 329–334, 1 jan. 1993. Disponível em <  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8422804/>>.

13. He J, Shen X, Fu D, Yang Y, Xiong K, Zhao L, Xie H, Pelekos G, Li Y. Human periodontitis-associated salivary microbiome affects the immune response of diabetic mice. *J Oral Microbiol.* 2022 Aug 4;14(1):2107814. doi: 10.1080/20002297.2022.2107814. PMID: 35958276; PMCID: PMC9359160.
14. Zhao M, Xie Y, Gao W, Li C, Ye Q, Li Y. Diabetes mellitus promotes susceptibility to periodontitis-novel insight into the molecular mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Aug 16;14:1192625. doi: 10.3389/fendo.2023.1192625. PMID: 37664859; PMCID: PMC10469003.
15. Barutta F, Bellini S, Durazzo M, Gruden G. Novel Insight into the Mechanisms of the Bidirectional Relationship between Diabetes and Periodontitis. *Biomedicines.* 2022 Jan 16;10(1):178. doi: 10.3390/biomedicines10010178. PMID: 35052857; PMCID: PMC8774037.
16. Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7:738.
17. Cao R, Li Q, Wu Q, et al. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and Bayesian network meta-analysis.
18. Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis and diabetes. *Brit Dent J.* 2019;227:577–584.
19. Zhang W, Ju J, Rigney T, et al. Porphyromonas gingivalis infection increases osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation in a periodontitis mouse model. *BMC Oral Health.* 2014;14:1–9.
20. Zhang D, Chen L, Li S, et al. Lipopolysaccharide (LPS) of Porphyromonas gingivalis induces IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 production by THP-1 cells in a way different from that of Escherichia coli LPS. *Innate Immun.* 2008;14:99–107.

21. Wang M, Chen F, Wang J, et al. Th17 and Treg lymphocytes in obesity and Type 2 diabetic patients. *Clin Immunol*. 2018;197:77–85.
22. Hajishengallis, G.; Lamont, R. J. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Molecular oral microbiology*, v. 27, n. 6, p. 409–19, 2012. Disponível em < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23134607/>>.
23. Nyvad, B.; Takahashi, N. Integrated hypothesis of dental caries and periodontal diseases. *Journal of Oral Microbiology*, v. 12, n. 1, p. 1–9, 1 dez. 2020. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6968559/>>.
24. Simmons RK, Alberti KG, Gale KA, et al. The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation. *Diabetologia*. 2010;53(4):600-605.
25. Tam, J. et al. Obesity alters composition and diversity of the oral microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus independently of glycemic control. *PLOS ONE*, v. 13, n. 10, p. e0204724, 2018.
26. Nesbitt, M. et al. Association of periodontitis and metabolic syndrome in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Aging Clinical and Experimental Research*, v.22,n.3, p. 238-242, 2010.
27. Morita T, Yamazaki Y, Mita A, et al. A cohort study on the association between periodontal disease and the development of metabolic syndrome. *J Periodontol*. 2010 ;81(4) :512- 519.
28. Pirih FQ, Monajemzadeh S, Singh N, Sinacola RS, Shin JM, Chen T, Fenno JC, Kamarajan P, Rickard AH, Travan S, Paster BJ, Kapila Y. Association between metabolic syndrome and periodontitis: The role of lipids, inflammatory cytokines, altered host response, and the microbiome. *Periodontol 2000*. 2021 Oct;87(1):50-75. doi: 10.1111/prd.12379. PMID: 34463996; PMCID: PMC8457155.

29. Stone NJ, Bilek S, Rosenbaum S. Recent National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III update: adjustments and options. *Am J Cardiol.* 2005;96(4A):53E-59E.
30. Jaramillo A, Lafaurie GI, Millán LV, Ardila CM, Duque A, Novoa C, López D, Contreras A. Association between periodontal disease and plasma levels of cholesterol and triglycerides. *Colomb Med (Cali).* 2013 Jun 30;44(2):80-6. PMID: 24892452; PMCID: PMC4002029.
31. Kunath BJ, Hickl O, Queirós P, Martin-Gallausiaux C, Lebrun LA, Halder R, Laczny CC, Schmidt TSB, Hayward MR, Becher D, Heintz-Buschart A, de Beaufort C, Bork P, May P, Wilmes P. Alterations of oral microbiota and impact on the gut microbiome in type 1 diabetes mellitus revealed by integrated multi-omic analyses. *Microbiome.* 2022 Dec 28;10(1):243. doi: 10.1186/s40168-022-01435-4. PMID: 36578059; PMCID: PMC9795701.
32. Demmer RT, Breskin A, Rosenbaum M, Zuk A, LeDuc C, Leibel R, Paster B, Desvarieux M, Jacobs DR Jr, Papapanou PN. The subgingival microbiome, systemic inflammation and insulin resistance: The Oral Infections, Glucose Intolerance and Insulin Resistance Study. *J Clin Periodontol.* 2017 Mar;44(3):255-265. doi: 10.1111/jcpe.12664. Epub 2017 Jan 27. PMID: 27978598; PMCID: PMC5328907.
33. Lourenço TGB, Spencer SJ, Alm EJ, Colombo APV. Defining the gut microbiota in individuals with periodontal diseases: an exploratory study. *J Oral Microbiol.* 2018 Jul 3;10(1):1487741. doi: 10.1080/20002297.2018.1487741. PMID: 29988721; PMCID: PMC6032013.
34. Soto, E.; Pinto, M.; Juluïen Santi-Rocca. Editorial: The Human Microbiota in Periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, 27 jun. 2022.
35. Yaseen A, Mahafzah A, Dababseh D, Taim D, Hamdan AA, Al-Fraihat E, Hassona Y, Şahin GÖ, Santi-Rocca J, Sallam M. Oral Colonization by *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax*: A PCR-Based Study in Health, Gingivitis, and Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021 Dec 7;11:782805. doi: 10.3389/fcimb.2021.782805. PMID: 34950608; PMCID: PMC8688919.

36. [https://www.equator-network.org/wp-content/uploads/2015/10/STROBE\\_checklist\\_v4\\_cross-sectional.pdf](https://www.equator-network.org/wp-content/uploads/2015/10/STROBE_checklist_v4_cross-sectional.pdf)
37. Ainamo J; Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25:229-35.
38. Faria ER de, Franceschini S do CC, Peluzio M do CG, Sant'Ana LF da R, Novaes JF de, et al.. Resistência à insulina e componentes da síndrome metabólica, análise por sexo e por fase da adolescência. *Arq Bras Endocrinol Metab* [Internet]. 2014Aug;58(6):610–8.
39. Kawamoto D, Borges R, Ribeiro RA, de Souza RF, Amado PPP, Saraiva L, Horliana ACRT, Faveri M, Mayer MPA. Oral Dysbiosis in Severe Forms of Periodontitis Is Associated With Gut Dysbiosis and Correlated With Salivary Inflammatory Mediators: A Preliminary Study. *Front Oral Health*. 2021 Oct 11;2:722495. doi: 10.3389/froh.2021.722495. PMID: 35048045; PMCID: PMC8757873.
40. Hernández M, Mayer MPA, Santi-Rocca J. Editorial: The Human Microbiota in Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Jun 27;12:952205. doi: 10.3389/fcimb.2022.952205. PMID: 35832387; PMCID: PMC9272019.
41. Abu Fanas S, Brigi C, Varma SR, Desai V, Senok A, D'souza J. The prevalence of novel periodontal pathogens and bacterial complexes in Stage II generalized periodontitis based on 16S rRNA next generation sequencing. *J Appl Oral Sci*. 2021 May 17;29:e20200787. doi: 10.1590/1678-7757-2020-0787. PMID: 34008792; PMCID: PMC8128322.
42. Matsha TE, Prince Y, Davids S, Chikte U, Erasmus RT, Kengne AP, Davison GM. Oral Microbiome Signatures in Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. *J Dent Res*. 2020 Jun;99(6):658-665. doi: 10.1177/0022034520913818. Epub 2020 Apr 16. PMID: 32298191.
43. Silva DNA, Casarin M, Monajemzadeh S, Bezerra BB, Lux R, Pirih FQ. The Microbiome in Periodontitis and Diabetes. *Front Oral Health*. 2022 Apr 8;3:859209. doi: 10.3389/froh.2022.859209. PMID: 35464780; PMCID: PMC9024052.

44. Sedghi LM, Bacino M, Kapila YL. Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021 Dec 7;11:766944. doi: 10.3389/fcimb.2021.766944. PMID: 34950607; PMCID: PMC8688827.
45. Xu, X. W. et al. Roles of Immune Cells and Mechanisms of Immune Responses in Periodontitis. *The Chinese journal of dental research: the official journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association (CSA)*, v. 24, n. 4, p. 219–230, 23 dez. 2021.
46. Kowalski, J. et al. What Has Immunology Brought to Periodontal Disease in Recent Years? *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*, v. 70, n. 1, 16 out. 2022.
47. Tsalamandris, S. et al. The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives. *European Cardiology Review*, v. 14, n. 1, p. 50, 2019.
48. Rohm, T. V. et al. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*, v. 55, n. 1, p. 31–55, jan. 2022.
49. Mittleman MA, Mostofsky E. Exchangeability in the case-crossover design. *Int J Epidemiol.* 2014 Oct;43(5):1645-55. doi: 10.1093/ije/dyu081. Epub 2014 Apr 22. PMID: 24756878; PMCID: PMC4190513.

## ANEXOS

### NORMAS DA REVISTA

#### 1- Normas gerais

1.1 - A Revista Sul-Brasileira de Odontologia tem publicação trimestral, e a divulgação dos artigos é feita em português, espanhol ou inglês.

1.2 - Os artigos enviados para publicação devem ser originais, não sendo permitida a sua apresentação simultânea em outro periódico (meio impresso e/ou eletrônico). A revista terá direitos autorais reservados sobre o trabalho publicado, em português, espanhol ou inglês, e é permitida a sua reprodução ou transcrição com a devida citação da fonte.

1.3 - Os trabalhos que envolvam seres humanos e animais, incluindo órgãos (dentes) e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com as resoluções vigentes no país e serem submetidos ao comitê de ética em pesquisa da instituição. É necessário anexar na seção "Material e métodos" uma sentença que afirme a aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética. Caso julgue necessário, o editor poderá solicitar a cópia da aprovação do trabalho pelo comitê de ética.

1.4 - Os trabalhos deverão ser enviados via e-mail ao editor da revista em dois arquivos Word acompanhados das respectivas figuras coloridas em arquivos separados JPG ou TIFF, com 300 dpi de resolução mínima. As figuras deverão também estar inseridas no texto, juntamente com suas legendas. Recomenda-se que os autores enviem novamente o trabalho em caso de não resposta do recebimento no prazo máximo de 10 dias.

1.5 - Os autores devem assinar uma Carta de Submissão do Artigo à RSBO, ou seja, um documento apresentando o artigo (título do artigo e autores). Nessa mesma carta deve constar que os autores assumem a responsabilidade pelo conteúdo e pela originalidade do trabalho e transferem os direitos autorais para a revista em

caso de aceite do artigo. A carta deve ser assinada preferencialmente por todos os autores, digitalizada (formato JPG) e enviada via e-mail juntamente com o trabalho. Um modelo desta carta encontra-se disponível na versão impressa e no site da revista. Artigos enviados sem a carta de submissão serão imediatamente devolvidos.

1.6 - Após o recebimento dos trabalhos, o Editor realizará uma revisão inicial, e em caso de aprovação os artigos serão encaminhados (sem a identificação dos autores) para apreciação pelos revisores científicos. Essa avaliação será feita em pares, cega e dela dependerá o aceite ou não do artigo. A solicitação de correções e/ou sugestões não indicará a aceitação do artigo, mas apenas a possibilidade de nova análise por parte dos revisores.

1.7 - A RSBO apóia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do International Committee of Medical Journal of Editors (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e a divulgação internacional de informação sobre estudos clínicos, em acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e pelo ICMJE, cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado ao final do resumo.

## **2- Apresentação dos artigos**

2.1 - Os trabalhos devem ser apresentados em folhas de papel tamanho A4, corpo 12 pontos, Times New Roman, com espaço duplo, margens laterais de 3 cm e margens superior e inferior com 2,5 cm, com no máximo 20 (vinte) laudas (incluindo as figuras), com 25 (vinte e cinco) linhas cada. Os trabalhos deverão ser digitados (Word 6.0 ou versão superior).

2.2 - Tabelas e quadros deverão ser numerados em algarismos romanos, com apresentação resumida e objetiva, para compreensão do trabalho e incluídos no texto do artigo (não deverão ser enviados em arquivos separados).

2.3 - Figuras e gráficos deverão ser numerados em algarismos arábicos, sendo as imagens enviadas em arquivos digitais separados, em formato JPG ou TIFF, sendo em preto e branco ou coloridas (300 dpi de resolução mínima). A publicação das imagens em cores vai depender da disponibilidade de publicação e a prioridade será definida pelos editores. As figuras, os gráficos e as suas legendas também deverão estar inseridos no texto do artigo.

2.4 - A numeração de páginas deve constar no canto inferior direito, sem contar a página de rosto.

### 3 - Estrutura do trabalho - Arquivo identificação do trabalho

#### Página do título

Título do trabalho: em português e em inglês - corpo 14 pontos, letras maiúsculas.

Nome do(s) autor(es): nome completo, e no final números sobrescritos indicativos das afiliações.

Enviar endereço postal completo do autor principal para correspondência, devendo constar obrigatoriamente o e-mail.

Cada autor deve estar localizado no canto superior esquerdo, um abaixo do outro e as afiliações devem vir abaixo da lista completa dos autores: não inserir titulação dos autores, apenas o Departamento, Instituição de origem por extenso, cidade, estado, país.

Exemplo:

Luiz Fernando Fariniuk<sup>1</sup>

Tatiana Deliberador<sup>2</sup>

1- Departamento de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

2- Departamento de Odontologia, Universidade Positivo, Curitiba, Paraná, Brasil

#### 3.1 - Estrutura do trabalho - Arquivo trabalho

Título do trabalho: em português e em inglês - corpo 14 pontos, letras maiúsculas

Resumo: Deve indicar resumidamente o que foi feito, em um só parágrafo, e conter na estrutura os seguintes itens: Introdução, Objetivo, Material e métodos (relato de caso ou revisão de literatura), Resultados e Conclusão.

Palavras-chave: 3 expressões que identifiquem o conteúdo do trabalho. Para isto, deverá ser consultado os DeCS - Descritores em Ciências da Saúde -, disponíveis no site da Bireme em <http://www.bireme.br>.

Abstract: resumo em inglês.

Keywords: palavras-chave em inglês.

Artigos em inglês não necessitam título, resumo e palavras-chave em português.

Artigos em espanhol necessitam título, resumo e palavras-chave em inglês.

Devem constar introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências.

Os nomes de medicamentos e materiais registrados, bem como de produtos comerciais, devem aparecer entre parênteses, após a citação do material, e somente uma vez (na primeira).

Referências:

Observar bem este item, pois os trabalhos serão devolvidos caso as referências não se encontrem nas normas.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética de nomes, com letras minúsculas numeradas em ordem crescente.

A menção das referências no texto deve ser feita entre colchetes e numerada de acordo com a lista de referências (podendo ser acrescida dos nomes dos autores e data de publicação). Se houver dois autores, devem-se citar ambos no texto, separados pela conjunção "e".

Já na listagem das referências, quando houver mais de seis (6) autores citar os nomes dos seis primeiros autores acrescidos da expressão et al.

Para a citação de revistas nas referências, elas devem ser abreviadas de acordo com o Index Medicus, disponível no endereço [www.nlm.nih.gov](http://www.nlm.nih.gov). No caso das revistas nacionais, o site da Bireme deverá ser consultado para esta busca, <http://www.bireme.br>.

Periódicos:

Wilcox LR. Thermafill retreatment with and without chloroform solvent. J Endod. 1993 Feb;19(4):563-6.

Wilcox LR, Juhlin JJ. Endodontic retreatment of Thermafill versus laterally condensed gutta-percha. J Endod. 1994 Jul;20(6):115-7.

Baratto Filho F, Ferreira EL, Fariniuk LF. Efficiency of the 0.04 taper ProFile during the re-treatment of gutta-percha-filled root canals. *Int Endod J*. 2002 Ago;35(8):651-4.

Livros:

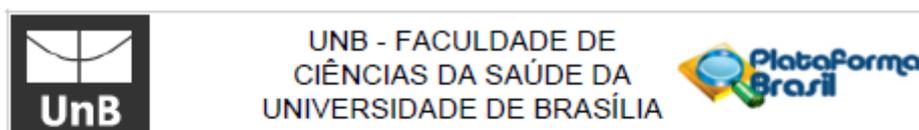
Soares IJ, Goldberg F. *Endodontia técnica e fundamentos*. 1 ed. Porto Alegre: Artmed; 2001. p. 201-5.

Obras da internet:

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1): [24 screens]. Available from: URL:<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.

Não serão mais aceitos citações a resumos, capítulos de livros, artigos in press, dissertações e teses.

**CONSIDERAÇÕES FINAIS DO PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP,  
RATIFICANDO A APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA CAAAE:  
87962818.4.0000.0030**



Continuação do Parecer: 2.666.423

o documento foi alterado, por meio de inclusão na Plataforma Brasil da informação que as amostras serão retidas para análise posterior.

Os documentos modificados (projeto e TCLE) foram anexados na plataforma. As mesmas solicitadas foram incluídas nas informações básicas do projeto na Plataforma Brasil.

**ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA**

Todas as pendências foram atendidas.

Não há óbices éticos para realização do presente estudo.

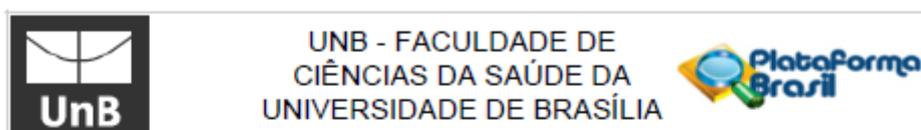
**Considerações Finais a critério do CEP:**

Conforme a Resolução CNS 466/2012, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1061824.pdf	21/05/2018 11:52:59		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Diabetes_FAP_DF_modificado.doc	21/05/2018 11:52:09	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Carta_resposta_pendencias_CEP.doc	21/05/2018 11:48:49	Cristine Miron Stefani	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificado.doc	17/05/2018 14:34:23	Cristine Miron Stefani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoRespCompromPesq.doc	18/04/2018 16:16:29	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	carta_ao_comite_de_etica.doc	18/04/2018 16:11:06	Cristine Miron Stefani	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	18/04/2018 16:10:16	Cristine Miron Stefani	Aceito
Cronograma	Cronograma.doc	18/04/2018 16:09:55	Cristine Miron Stefani	Aceito
Orçamento	Planilha.doc	18/04/2018	Cristine Miron	Aceito

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro  
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
 UF: DF Município: BRASÍLIA  
 Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.666.423

Orçamento	Planilha.doc	16:05:36	Stefani	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_assinada.PDF	11/04/2018 11:48:37	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Valeria.pdf	11/04/2018 11:48:13	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Naile.pdf	11/04/2018 11:47:34	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Maria_do_Carmo.pdf	11/04/2018 11:46:00	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Loise.pdf	11/04/2018 11:43:41	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Laudimar.pdf	11/04/2018 11:40:15	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Daniela.pdf	11/04/2018 11:37:27	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Lattes_Cristine.pdf	11/04/2018 11:31:13	Cristine Miron Stefani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	carta_ao_cep.pdf	11/04/2018 11:15:55	Cristine Miron Stefani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_responsabilidade_pesquisador.pdf	11/04/2018 11:15:39	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Questionario_halitose.pdf	11/04/2018 11:05:07	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Questionario_xerostomia.pdf	10/04/2018 11:20:58	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Ficha_clinica.pdf	10/04/2018 10:55:02	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Termo_concordancia_coparticipante.doc	10/04/2018 10:41:07	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	Termo_ciencia_coparticipante.doc	10/04/2018 10:38:43	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	termo_ciencia_copar.pdf	10/04/2018 10:37:21	Cristine Miron Stefani	Aceito
Outros	termo_concorda_copar.pdf	10/04/2018 10:36:29	Cristine Miron Stefani	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Diabetes_FAP_DF_Final.doc	10/04/2018 10:33:19	Cristine Miron Stefani	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro  
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
 UF: DF Município: BRASÍLIA  
 Telefone: (61)3107-1947 E-mail: ceptsunb@gmail.com

Página 12 de 13

**STROBE STATEMENT—CHECKLIST OF ITEMS THAT SHOULD BE INCLUDED IN REPORTS OF CROSS-SECTIONAL STUDIES**

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cross-sectional studies*

	Item No	Recommendation
<b>Title and abstract</b>	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract (b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found
<b>Introduction</b>		
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
<b>Methods</b>		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
Study size	10	Explain how the study size was arrived at
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding (b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions (c) Explain how missing data were addressed (d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy (e) Describe any sensitivity analyses
<b>Results</b>		
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed (b) Give reasons for non-participation at each stage (c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included (b) Report category boundaries when continuous variables were categorized (c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses

---

<b>Discussion</b>		
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
<b>Other information</b>		
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based

\*Give information separately for exposed and unexposed groups.

**Note:** An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at [www.strobe-statement.org](http://www.strobe-statement.org).