



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Lisiane Castagna

**Efeitos da terapia periodontal na função endotelial e  
na expressão de marcadores inflamatórios sistêmicos**

Rio de Janeiro

2014

Lisiane Castagna

**Efeitos do tratamento periodontal na função endotelial e  
na expressão de marcadores inflamatórios sistêmicos**

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco

Rio de Janeiro

2014

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

C346	<p>Castagna, Lisiane. Efeitos da terapia periodontal na função endotelial e na expressão de marcadores inflamatórios sistêmicos / Lisiane Castagna. – 2014. 125 f.</p> <p>Orientador: Eduardo Muniz Barretto Tinoco. Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.</p> <p>1. Periodontite. 2. Sistema cardiovascular - Doenças. 3. Aterosclerose. 4. Periodonto – Inflamação. 5. Marcadores Biológicos. I. Tinoco, Eduardo Muniz Barretto. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 616.314</p>
------	--

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

---

Assinatura

---

Data

Lisiane Castagna

**Efeitos da terapia periodontal na função endotelial e  
na expressão de marcadores inflamatórios sistêmicos**

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

Aprovada em 21 de fevereiro de 2014.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco  
Faculdade de Odontologia da UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer  
Faculdade de Odontologia - UERJ

---

Prof. Dr. Edson Jorge Lima Moreira  
Faculdade de Odontologia - UNIGRANRIO

---

Prof. Dr. Jamal Hassan Assaf  
Curso de Odontologia - UFSM

---

Prof. Dr. Márcio Eduardo Vieira Falabella  
Faculdade de Odontologia - UFJF

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Denise Gomes da Silva  
Faculdade de Odontologia - UNIGRANRIO

Rio de Janeiro

2014

## DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Rômulo e Zorá e  
especialmente à minha filha Alice.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida, por ter me dado a maior benção, que é a minha filha Alice, pela resiliência às adversidades e mais sabedoria a cada etapa de minha vida, por me conceder saúde, paz e a realização de sonhos. “A graça é dada por Deus, mas o conhecimento nasce do esforço”.

À minha família, em especial à minha filha Alice Castagna Hollweg, que apareceu na minha vida no momento e hora certa. Surgiu como uma sementinha e quietinha durante 37 semanas e nasceu dia 09/03/2013, em uma gravidez calma e tranquila, sem problemas pré-natais, o que me permitiu realizar toda a parte experimental do projeto do Doutorado com ela em minha barriga. O resultado deste trabalho é seu também, pois estava junto comigo em todos os momentos. A sua presença ali firme e forte, ligada a mim, só me trouxe mais força e garra para conseguir finalizar toda a parte experimental. E, desculpe a minha ausência por momentos, em que não pude estar sempre inteira, a etapa mais dura e difícil para mim, que foi durante a análise estatística, digitação e preparo para a apresentação do trabalho para o dia da defesa.

Aos meus pais, Rômulo Castagna e Zorá Batista Castagna, que sempre me incentivaram a estudar, que me deram apoio financeiro necessário aos estudos e quando precisei na realização deste trabalho e que sempre serviram-me de exemplo de filosofia de vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco, por me inserir no meio da pesquisa e me ajudar no meu primeiro trabalho apresentado no IADR em Toronto e que terminou em publicação internacional de uma revista de impacto. Também, pelo incentivo e oportunidade de realizar o Doutorado em Periodontia na UERJ, por permitir e acreditar na realização deste projeto a distância. A realização do Doutorado na cidade onde eu moro me permitiu realizar dois sonhos juntos, o de continuar a estudar para ser DOUTORA e o de ser MÃE. Não tenho palavras para expressar o tamanho da minha gratidão.

Ao Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer, que me aceitou na vaga de Doutoranda da UERJ, e como coordenador da pós-graduação permitiu também a execução deste projeto à distância, me auxiliando sempre com conselhos na linha de pesquisa deste trabalho.

Ao Dr. Pablo Fernando Batista Biavaschi, pelo apoio durante a etapa de coleta dos dados de ultrassonografia das artérias carótidas, tendo disponibilidade e tempo para colaborar com o meu trabalho.

Ao Instituto Cardiovascular ICÁRDIO de Santa Maria/RS, às funcionárias que ali trabalham e em especial aos médicos Dr. Rômulo Castagna, Dr. Luiz Gustavo Thomé, Dr. Paulo Baú, Dr. Hamilton Bulcão e Dr. Adroir Martins, que me apoiaram permitindo a minha inserção dentro do centro, realizando os exames. Também, pelo anseio deste trabalho dar certo, com conversas, conselhos e ensinamentos na parte de cardiologia.

À Dra. Marta Maria Medeiros Duarte, que desde o momento em que pedi seu auxílio durante a fase do projeto para a vaga de Doutorado na UERJ até a finalização e conclusão deste trabalho mostrou-se muita solícita ao fazer as análises sorológicas e esteve sempre pronta para ajudar nas dúvidas.

Ao laboratório LABIMED de Santa Maria/RS e a sua equipe de funcionárias sempre dispostas a realizar a coleta das amostras sorológicas e me dando auxílio no manejo dos pacientes principalmente durante as etapas finais, onde eu estava mais precisando de auxílio, pois estava no final da gravidez.

A todos os professores que tive nas disciplinas da UERJ. A experiência como professora de periodontia da graduação e os conhecimentos adquiridos durante o curso como por exemplo nas disciplinas “Como Publicar” e “Bioestatística” e os seminários com o Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco e o Prof. Dr. Carlos Marcelo da Silva Figueredo, foram uma alavanca na área clínica e pesquisa. Absorvi muito aprendizado no primeiro ano de Doutorado morando no Rio de Janeiro.

A todos os colegas do Doutorado da UERJ, onde trocamos idéias e experiências, onde houve companheirismo e o entendimento mútuo desta etapa de nossas vidas. Em especial, ao colega Léo Guimarães Soares que foi meu colega desde o mestrado na UNIGRANRIO, sendo um aluno dedicado, servindo de exemplo e ajudando sempre a solucionar muitas dúvidas e realizando em conjunto os trabalhos de pesquisa e bioestatística.

Aos pacientes voluntários da pesquisa que se submeteram e aceitaram todas as etapas deste trabalho, incentivando o crescimento científico. O correto seguimento das orientações dadas e a presença em todas as chamadas de consultas de tratamento e exames colaboraram com a conclusão do trabalho.

A minha sincera gratidão!

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.

*Charles Chaplin*



## RESUMO

CASTAGNA, Lisiane. **Efeitos do tratamento periodontal na função endotelial e na expressão de marcadores inflamatórios sistêmicos.** 125f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

A periodontite é uma doença infecciosa, crônica e altamente prevalente causando uma resposta inflamatória. A infecção e a inflamação são consideradas a base etiológica para o desenvolvimento da aterosclerose. Recentes estudos indicam que a periodontite severa pode influenciar o aumento de marcadores inflamatórios e de disfunção endotelial associados com o aumento de risco da doença coronariana e o acidente vascular cerebral. Embora alguns estudos tenham sugerido esta associação, os reais efeitos do tratamento da doença periodontal sobre a rede complexa de marcadores envolvidos na aterosclerose são pouco conhecidos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da terapia periodontal nos biomarcadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , fibrinogênio, PCRus, INF $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-10), perfil lipídico (CT, HDL, LDL, TG, oxLDL e anti-oxLDL) e função endotelial (IMT) das artérias carótidas. Um total de trinta e dois indivíduos saudáveis sistemicamente e afetados pela periodontite severa (16 mulheres, 16 homens; 51,8 $\pm$ 7 anos de idade), incluindo 17 sujeitos para o grupo teste e 15 sujeitos para o grupo controle foram recrutados para o estudo. A ultrassonografia das artérias carótidas e os níveis séricos inflamatórios foram avaliados no início, 40 e 100 dias após o tratamento periodontal não-cirúrgico, comparando tempo e grupos. O tratamento periodontal resultou em significativa redução dos parâmetros da doença periodontal. O grupo que recebeu tratamento mostrou decréscimos significativos de oxLDL (P<0,0001), anti-oxLDL (P<0,0001), TNF- $\alpha$  (P<0,0001), fibrinogênio (P=0,008), INF $\gamma$  (P<0,0001), IL-1 $\beta$  (P<0,0001), IL-6 (P<0,0001), IMT (P=0,006) e significativo aumento de IL-10 (P<0,0001) após 100 dias do tratamento periodontal comparando com grupo controle. Entretanto, os resultados não foram significativos para PCRu (P=0,109), colesterol total (P=0,438), HDL (P=0,119), LDL (P=0,425) e triglicerídeos (P=0,939). Com base nestes resultados, o tratamento da periodontite pode melhorar o perfil inflamatório e a função endotelial, sendo uma importante ferramenta adicional para a prevenção das doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: Marcadores inflamatórios. Índice médio-intimal. Doença cardiovascular. Aterosclerose. Periodontite.

## ABSTRACT

CASTAGNA, Lisiane. **Effects of periodontal treatment on endothelial function and expression of systemic inflammatory markers.** 125f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

Periodontitis is an infectious, chronic and highly prevalent that causes an inflammatory response. Infection and inflammation are considered to be the etiological basis for the development of atherosclerosis. Recent studies indicate that severe periodontitis may influence the increased inflammatory and endothelial dysfunction markers associated with increased risk of coronary heart disease and stroke. Although some studies have suggested this association, the true effects of periodontal treatment on the complex novel of markers involved in atherosclerosis are poorly understood. The aim of this study was to evaluate the effect of periodontal therapy on inflammatory biomarkers (TNF- $\alpha$ , fibrinogen, PCRus, INF $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10), lipid profile (TC, HDL, LDL, TG, oxLDL and anti-oxLDL) and endothelial function (IMT) of carotid arteries. A total of thirty-two otherwise health individuals affected by severe periodontitis (16 women, 16 man; 51,8 $\pm$ 7 years old), including 17 subjects for the test group and 15 subjects in the control group, were enrolled in the study. Echo-Doppler cardiography of the carotid artery and plasma inflammatory indices were evaluated at baseline, 40 and 100 days after non-surgical periodontal treatment. Periodontal treatment resulted in a significant reduction of parameters of periodontal disease. The test group showed significant decreases in oxLDL (P<0.0001), anti-oxLDL (P<0,0001), TNF- $\alpha$  (P<0,0001), fibrinogen (P=0,008), INF $\gamma$  (P<0,0001), IL-1 $\beta$  (P<0,0001), IL-6 (P<0,0001), IMT (P=0,006) and significant increase of IL-10 (P<0,0001) after 100 days of periodontal treatment compared with control group. However, the results were not significant for PCRu (P=0,109), total cholesterol (P=0,438), HDL cholesterol (P=0,119), LDL cholesterol (P=0,425) and tryglicerides (P=0,939). Based on these results, treating periodontitis can improve endothelial function and inflammatory profile being an important preventive tool for cardiovascular disease.

**Kew words:** Inflammatory markers. Intima-media thickness. Cardiovascular disease. Atherosclerosis. Periodontitis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo explicativo da associação de infecção oral e aterosclerose.....	42
Figura 2 – Comparações Post Hoc das interações ‘tempo*tratado-controle’ significativas descritas na Tabela 4.....	79
Figura 3 – Comparações Post Hoc das interações ‘tempo*tratado-controle’ significativas descritas na Tabela 5.....	80
Figura 4 – Comparações Post Hoc das interações ‘tempo*tratado-controle’ significativas descritas nas Tabelas 6 e 7.....	81

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – População Experimental: tabela descritiva das características gerais.....	72
Tabela 2 – Características sócio-culturais e sócio-demográficas da amostra investigada.....	73
Tabela 3 – Características médicas e histórico médico familiar da amostra investigada.....	74
Tabela 4 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre parâmetros clínicos periodontais.....	75
Tabela 5 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre parâmetros cardiológicos.....	76
Tabela 6 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre o perfil lipídico.....	77
Tabela 7 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre os marcadores inflamatórios.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGP	Alfa-1-glicoproteína ácida
AHA	American heart association
anti-oxLDL	Anticorpos anti-LDL-oxidado
AVC	Acidente vascular cerebral
CD4	Linfócitos T CD4
cm	Centímetro
CMV	Citomegalovírus
CT	Colesterol total
DCV	Doença (s) cardiovascular (es)
DCVA	Doença (s) cardiovascular (es) aterosclerótica (s)
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DNA	Ácido desoxirribunucleico
DP	Doença (s) periodontal (ais)
GEEs	Modelo de equações de estimativas generalizadas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
h (s)	hora (s)
IDL	Lipoproteína de intermediária densidade
IFRP	Índice dos fatores retentivos de placa
IL-1	Interleucina-1
mg/dL	Miligramas por decilitro
IL-1 $\alpha$	Interleucina-1 alfa
IL-1 $\beta$	Interleucina-1 beta
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
IL-18	Interleucina-18
IL-16	Interleucina-16
IMC	Índice de massa corpórea

IMT	Índice médio intimal
INF $\alpha$	Interferon alfa
INF $\beta$	Interferon beta
INF $\gamma$	Interferon gama
IPV	Índice de placa visível
ISG	Índice de sangramento gengival
Kg	Kilograma
Kg/m <sup>2</sup>	Kilograma por metro quadrado
L	Lingual
LD	Lingual distal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LV	Lingual vestibular
M	Metros
$\mu$ g/mL	Micrograma por mililitro
mg/ml	Miligramas por mililitro
mL	Mililitro
mm	Milímetros
min	Minuto
MMP-9	Matriz metaloproteinase-9
MNI	Média do nível de inserção
MPI	Média da perda de inserção
MPS $\geq$ 4mm	Média de PS maior ou igual a 4mm
N <sup>o</sup>	Número
NI	Nível de inserção
oxLDL	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
PAVE	Periodontite e eventos vasculares
PCR	Proteína C-reativa
PCR-us	Proteína C-reativa ultrasensível
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina-E <sub>2</sub>
pg/dL	Picograma por decilitro
pg/mL	Picograma por mililitro
PS	Profundidade de sondagem
RNA	Ácido ribonucleico

Rpm	Rotações por minuto
SS	Sangramento à sondagem
TG	Triglicerídeos
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
V	Vestibular
VD	Vestíbulo Distal
VM	Vestíbulo Mesial
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
WHO	Organização mundial da saúde

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
1	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	20
1.1	<b>Doença Periodontal</b> .....	20
1.1.1	<u>Definição</u> .....	20
1.1.2	<u>Epidemiologia</u> .....	20
1.1.3	<u>Etiologia, sinais e sintomas</u> .....	22
1.1.4	<u>Diagnóstico</u> .....	22
1.1.5	<u>Classificação</u> .....	23
1.2	<b>Doenças Cardiovasculares</b> .....	24
1.2.1	<u>Definição</u> .....	24
1.2.2	<u>Epidemiologia</u> .....	24
1.2.3	<u>Etiologia</u> .....	25
1.2.4	<u>Patogênese</u> .....	25
1.2.5	<u>Infecção e o seu papel nos eventos cardiovasculares</u> .....	27
1.2.6	<u>Inflamação e o seu papel nos eventos cardiovasculares</u> .....	28
1.2.7	<u>Marcadores da inflamação e doenças cardiovasculares</u> .....	29
1.2.7.1	Proteínas de fase aguda.....	30
1.2.7.1.1	Proteína C-reativa.....	30
1.2.7.1.2	Fibrinogênio.....	32
1.2.7.2	Citocinas.....	33
1.2.7.2.1	Interleucinas.....	33
1.2.7.2.2	Interleucina-1.....	34
1.2.7.2.3	Interleucina-6.....	34
1.2.7.2.4	Interleucina-10.....	35
1.2.7.2.5	Interferon gama.....	36
1.2.7.3	Fator de necrose tumoral-alfa.....	36
1.2.8	<u>Disfunção endotelial</u> .....	37
1.2.8.1	Índice médio-intimal das artérias carótidas.....	37
1.2.9	<u>Lipídios</u> .....	38
1.2.9.1	oxLDL e anti-oxLDL.....	39



1.3	<b>Histórico da associação das doenças infecciosas e inflamatórias com as doenças sistêmicas</b> .....	40
1.4	<b>Associação das doenças periodontais com as doenças cardiovasculares</b> ...	40
1.4.1	<u>Estudos de plausibilidade biológica</u> .....	43
1.4.2	<u>Estudos epidemiológicos</u> .....	44
1.4.3	<u>Estudos de intervenção</u> .....	47
1.4.4	<u>Revisões, revisões sistemáticas e meta-análises</u> .....	52
1.4.5	<u>Consensos da Associação Americana do Coração e Associação Americana de Periodontia</u> .....	54
2	<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	56
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	57
3.1	<b>Hipóteses da pesquisa</b> .....	57
3.2	<b>Ética da pesquisa</b> .....	57
3.3	<b>Desenho do estudo</b> .....	57
3.4	<b>População experimental</b> .....	58
3.5	<b>Esboço do estudo</b> .....	58
3.6	<b>Calibragem do examinador</b> .....	59
3.7	<b>Parâmetros periodontais</b> .....	59
3.8	<b>Tratamento periodontal</b> .....	59
3.9	<b>Análise e coleta de sangue</b> .....	60
3.10	<b>Ultrassonografia das artérias carótidas</b> .....	61
4	<b>TRATAMENTO DOS DADOS</b> .....	63
4.1	<b>Cálculo amostral</b> .....	63
4.2	<b>Análise estatística</b> .....	63
4.3	<b>Variáveis de confusão</b> .....	64
4.4	<b>Testes estatísticos</b> .....	64
5	<b>RESULTADOS</b> .....	65
5.1	<b>População experimental</b> .....	65
5.2	<b>Características clínicas</b> .....	67
5.2.1	<u>Exame odontológico periodontal</u> .....	67
5.3	<b>Efeito do tratamento nos resultados periodontais</b> .....	67
5.4	<b>Efeito do tratamento nos parâmetros obtidos da ultrassonografia das artérias carótidas</b> .....	68

5.5	<b>Efeito do tratamento nos parâmetros sorológicos.....</b>	69
5.5.1	<u>Perfil lipídico.....</u>	69
5.5.2	<u>Marcadores inflamatórios.....</u>	70
6	<b>DISCUSSÃO.....</b>	82
7	<b>CONCLUSÃO.....</b>	88
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	89
	<b>APÊNDICE A – Ficha de anamnese dos pacientes.....</b>	120
	<b>APÊNDICE B – Ficha clínica periodontal dos pacientes.....</b>	121
	<b>ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....</b>	122
	<b>ANEXO B – Aprovação do comitê de ética em pesquisa.....</b>	124
	<b>ANEXO C – Texto informativo para os pacientes voluntários da pesquisa....</b>	125

## INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é caracterizada por uma infecção e inflamação nos tecidos de suporte e sustentação dos dentes, o que resulta na destruição do osso alveolar do dente podendo levar à perda do elemento dentário (LINDHE, 2005; OFFENBACHER, 1996). As DP podem chegar a atingir cerca de 60% da população adulta dentada (OLIVER; BROWN, 1998). Assim como as DP, as doenças cardiovasculares (DCV) também são condições inflamatórias comuns e altamente prevalentes na população (AHA, 2014; PAPAPANOU, 1996).

As doenças cardiovasculares possuem extrema importância por se tornarem a principal causa de morte das pessoas em todo o mundo (LUEPKER, 2011) sendo responsáveis por 29% das mortes mundiais (WHO, 2009). A aterosclerose é o componente mais importante das doenças cardiovasculares. As artérias musculares e elásticas ocluem com lesões fibrolipídicas, chamadas ateromas.

As implicações inflamatórias sistêmicas das infecções agudas ou crônicas têm chamado atenção no meio científico. Tanto os clínicos como os pesquisadores entendem que a inflamação possui um papel primordial no desenvolvimento da aterosclerose, através da expressão celular endotelial de adesão de moléculas para o desenvolvimento da listra gordurosa, placa estabilizada e no final, a ruptura da placa. As complicações do estágio final ou eventos associados à aterosclerose incluem a trombose coronariana, o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral (PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007).

A ultrassonografia de alta resolução é um método não invasivo que tem sido utilizada para monitorar e medir a espessura da camada íntima e média das artérias carótidas (TOUBOL, 2007) por apresentar associação aos eventos cardiovasculares (O'LEARY; POLAK; WOLFSON, 1991, O'LEARY; POLAK; WOLFSON, 1992) podendo prever acidentes vasculares futuros (AMINBAKSHI; MANCINI, 1999). Além disso, alguns marcadores sorológicos podem prever com precisão o futuro cardiovascular como a interleucina-6 (IL-6) e a proteína C-reativa (PCR) que representam os mais sensíveis (D'AUTO; READY; TONETTI, 2004).

As evidências científicas atuais sugerem uma associação entre a doença periodontal e a aterosclerose, com um aumento do risco para as doenças cardiovasculares e eventos cerebrovasculares observando-se indivíduos com a periodontite severa (ELKIND; COLE, 2006; HANSSON, 2005). Muitos estudos sugerem que as infecções periodontais perpetuam

os eventos inflamatórios presentes na aterogênese (BECK et al., 1996; 1998; D'AUTO et al., 2006; ELTER et al., 2006; TONETTI et al., 2007). Além disso, a associação estaria correlacionada a gravidade da doença periodontal, independente dos fatores de risco de risco convencionais, como tabagismo, diabetes e índice de massa corpórea (ARMITAGE, 2000).

As hipóteses para o entendimento desta relação baseadas em vários tipos de estudos são muitas, incluindo inflamação sistêmica gerada pela infecção periodontal e liberação de lipossacarídeos, ativação das células inflamatórias circulantes e das células endoteliais, invasão direta da bactéria na parede do vaso, respostas hiper-inflamatórias exageradas à bactéria periodontal ou reatividade cruzada entre antígenos humanos e, também, os mecanismos predisponentes como a genética do indivíduo (LALLA et al., 2003).

Os estudos de plausibilidade biológica associam os patógenos comuns como *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* e *citomegalovírus* com a aterosclerose e os eventos cardiovasculares (EPSTEIN et al., 2000; SHAH, 2002). A presença de patógenos orais bem com o seus respectivos DNA foram encontrados em espécimes obtidas através da endarectomia e nas placas ateroscleróticas em estudos experimentais em animais (LALLA et al., 2003) e em humanos (FIEHN et al., 2005; HARASZTHY et al., 2000; KOSAROV et al., 2005; SCHILLINGER et al., 2006; STELZEL et al., 2002).

Vários estudos observacionais e meta-análises recentes demonstram que as pessoas expostas às doenças periodontais possuem maior risco de desenvolverem as doenças cardiovasculares (BAHECAR et al., 2007; DESTEFANO et al., 1993; DESVARIEUX et al., 2003; MUSTAPHA et al., 2007).

Outros estudos também têm investigado o real desempenho da terapia periodontal na inflamação sistêmica (D'AUTO et al., 2005, 2006; ELTER et al., 2006; PAPAPANOU, 2007; SEISNOT et al., 2005; TONETTI et al., 2007), contudo os efeitos da terapia nos verdadeiros resultados das doenças cardiovasculares, como o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral, são ainda obscuros. Apesar dos contínuos esforços preventivos conduzidos aos fatores de risco modificáveis, a taxa de mortalidade das doenças cardiovasculares tem virtualmente continuado imutável desde a década passada nos países desenvolvidos (PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007).

O presente estudo de intervenção teve como objetivo principal avaliar se o tratamento da doença periodontal severa pode ter um impacto sobre marcadores sorológicos de inflamação sistêmica (PCR-u, IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fibrinogênio), sobre um marcador de risco para as doenças cardiovasculares (índice médio-intimal da artéria carótida

comum) e sobre os níveis séricos dos lipídios (CT, HDL, LDL, TG, oxLDL, anti-oxLDL). Os resultados clínicos periodontais foram também analisados para avaliar o nível de eficácia do tratamento periodontal.

## 1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Doença periodontal

#### 1.1.1 Definição

A doença periodontal é a infecção do periodonto (gengiva, ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar) por bactérias presentes no biofilme dental (LINDHE, 2005; LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; PAPAPANOU, 1996) que elícita os mecanismos de defesa do hospedeiro (BALLIEUX, 1991). Inicia com a gengivite, uma inflamação nos tecidos moles somente, pode progredir para periodontite, onde há a destruição dos tecidos de inserção e osso alveolar, e eventualmente levar à perda dentária (ARMITAGE, 1999; PAPAPANOU, 1996; PHILSTROM; MICHALOWICZ; JOHSON, 2005). A perda de tecidos frequentemente compromete a função e a estética e pode estar associado a dor e ao desconforto (ALBANDAR et al., 1999).

A periodontite é uma infecção local associada a uma série de respostas inflamatórias sistêmicas. Os pacientes que sofrem as formas mais graves da doença apresentam uma forte alteração do sistema de homeostase (EBERSOLE; CAPPELLI, 2000). Nem toda a periodontite se manifesta da mesma forma nos diferentes indivíduos, pois a sua resposta pode ser modulada por diferentes fatores genéticos (polimorfismos) e ambientais (tabagismo, obesidade).

#### 1.1.2 Epidemiologia

A periodontite é um grave problema de saúde pública (BAEHNI E TONETTI, 2010; EKE et al., 2012) pelo motivo de estar associada às desigualdades sociais, por promover menos qualidade de vida, por influenciar negativamente na estética e função do sistema estomatognático, por provocar a perda dentária ou a sua incapacidade e por levar ao edentulismo ou causar uma série de reações associadas a importantes doenças sistêmicas. A

periodontite afeta desproporcionalmente certos grupos como o socialmente desfavorecido, certos grupos étnicos, fumantes, diabéticos e obesos.

A prevalência global das doenças periodontais é alta (EKE et al., 2012; OLIVER; BROWN; LÖE, 1991), com as formas médias e moderadas afetando a maior parte da população adulta e as formas severas de periodontite crônica afetando aproximadamente 10% a 15% dos indivíduos (PAPAPANOU, 1996). A estimativa é de que, no mínimo, 35% dos pacientes dentados adultos (30 a 90 anos) dos Estados Unidos apresentem a periodontite, sendo que 21,8% possuem a forma amena e proporcional à idade (ALBANDAR et al., 1999). Também no norte da Europa, nos anos 90, o aumento no número de indivíduos com doença periodontal durante o decorrer de 20 anos chamou a atenção da comunidade para os cuidados com a saúde bucal (HUGOSON et al., 1998).

Estudos epidemiológicos demonstram que a prevalência e severidade da doença periodontal aumenta com a idade (BURT, 1994; PAPAPANOU; LINDHE; STERETT, 1991). Também, uma diversidade de estudos mostra uma associação entre gênero e perda de inserção em adultos, sendo que homens têm maior prevalência e severidade da doença periodontal do que as mulheres (GROSSI, 1998). Além disso, a situação socioeconômica é um importante indicador de risco para a doença periodontal, sendo que os indivíduos que apresentam baixo poder aquisitivo têm uma maior ocorrência da perda de inserção e profundidade de sondagem do que aqueles com alto poder aquisitivo (DRURY; GARCIA; ADESANYA, 1999).

O comportamento de tabagismo tem consistentemente sido associado com a perda de inserção (GELSKEY, 1999), pois os fumantes têm significativamente maior risco de desenvolver a doença periodontal crônica e de mostrar uma maior taxa de destruição periodontal do que os não-fumantes (BERGSTROM; ELIASSON; DOCK, 2000). Ainda, estudos em indivíduos brasileiros constata que 12% dos casos de periodontite podem estar relacionados ao fumo de cigarros (SUSIN; OPPERMAN; HAUGEJORDEN, 2004).

A associação da diabetes mellitus à doença periodontal tem sido amplamente estudada nos últimos anos, e há evidências que os indivíduos diabéticos têm consideravelmente um maior risco para a doença periodontal do que os não diabéticos (LALLA; LAMSTER; FEIT, 2000; TAYLOR, 1999). Além disso, outras doenças e condições sistêmicas vêm sendo estudadas, tendo o polimorfismo genético mostrado resultados de associação com o aumento de risco para a periodontite (MICHALOWICZ; DIEHL; GUNSOLLEY, 2000). Aproximadamente 50% da variação da severidade clínica da periodontite crônica é explicada por influências genéticas (MICHALOWICZ; AEPPLI; VIRAG, 1991).

### 1.1.3 Etiologia, sinais e sintomas

A destruição inflamatória dos tecidos que circundam o dente é causada por patógenos anaeróbios que estão presentes no biofilme dental e atuam no início e progressão da doença (OFFENBACHER, 1996; SANZ E QUIRYNEN, 2005), entretanto apenas a sua presença não é suficiente para determinar a sua ocorrência. Fatores locais e sistêmicos têm um papel modulador na sua patogênese (ALBANDAR, 2002). Os fatores genéticos, ambientais e do hospedeiro também podem estar presentes (FLEMMIG, 1999), podendo assim ser considerada uma desordem multifatorial. Assim, a manifestação e a progressão da periodontite são influenciadas por vários fatores e determinantes (NUMM, 2003).

Uma ampla gama de estudos tem sido realizada para identificar a microflora associada à doença periodontal. Os principais patógenos incluem *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* e a espiroqueta *Treponema denticola*. A infecção é manifestada através da ação das leucotoxinas bacterianas, collagenases, fibrinolisinases e outras proteases (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1998). Além disso, vários efeitos genéticos e ambientais têm sido identificados na estabilidade desta microflora no biofilme dental (VAN DYKE; SHEILESH, 2005).

A perda de tecidos frequentemente compromete a função e a estética e pode estar associada à dor e ao desconforto (ALBANDAR, 1999). Os pacientes que possuem periodontite são, frequentemente, assintomáticos, mas, quando apresentam os sinais e sintomas são gengivas edemaciadas e sem cor normal, sangramento gengival espontâneo ou após higiene oral, aparência longilínea do dente devido a recessões gengivais, aumento do espaço entre os dentes, secreção purulenta entre a gengiva e dentes, perda dentária, sensibilidade dentária alterada, mobilidade dentária, gosto ruim e halitose (devido à infecção anaeróbia), podendo apresentar dor espontânea ou na mastigação (FRIEDEWALD et al., 2009).

### 1.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico clínico da periodontite necessita da avaliação de um examinador bem treinado que analise a presença de inflamação gengival, a perda do tecido conjuntivo ao redor do dente, através da sondagem com sonda periodontal e a perda óssea, por radiografias



(FRIEDEWALD et al., 2009). O exame clínico e a sondagem periodontal devem fornecer dados categóricos e numéricos, como o índice de sangramento gengival (ISG), índice de placa visível (IPV), índice dos fatores retentivos de placa (IFRP), profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS), nível de inserção (NI), furca entre as raízes e mobilidade dentária. Os dados são sempre avaliados antes, após o tratamento periodontal e durante o período de manutenção periodontal para avaliação diagnóstica dos pacientes (LINDHE, 2005).

#### 1.1.5 Classificação

A periodontite crônica é a forma mais comum de doença periodontal destrutiva, podendo ser descrita, de acordo com o número de sítios envolvidos, como generalizada ou localizada (FLEMMIG et al., 1999; LINDHE; RANNEY; LAMSTER, 1999) e quanto a severidade (quantidade de perda de inserção) em leve, moderada e severa (BORREL; BURT; TAYLOR, 2005; FLEMMING, 1999). Possui progressão lenta a moderada, mas pode ter períodos de rápida progressão (LINDHE, 1999). A periodontite agressiva é a forma mais rápida de progressão da doença e frequentemente ocorre em adolescentes e adultos jovens (LANG; BARTOLD; CULLINAN, 1999). Outros grupo importantes de doença periodontal incluem a periodontite como manifestação das doenças sistêmicas (LINDHE, 1999) e as doenças periodontais necrosantes (LANG; SOSKOLNE; GREENSTEIN, 1999).

Os dados que temos atualmente indicam que a periodontite severa está associada a uma resposta inflamatória sistêmica, pois os pacientes afetados possuem um aumento dos níveis séricos de proteína C reativa (PCR) e fibrinogênio, leucocitose moderada, bem como o aumento nos níveis séricos de IL-1 e IL-6 quando comparados com a população não afetada (EBERSOLE E CAPPELI, 2000; FREDRIKSSON, BERGSTROM; ASMAN, 2002; KWEIDER et al., 1993; LOOS; GRAANDIJK; HOEK, 2000; NOACK et al., 2001).

## 1.2 Doenças cardiovasculares

### 1.2.1 Definição

As doenças cardiovasculares ateroscleróticas (DCVA) são um grupo de doenças que incluem as doenças coronarianas fatais ou não-fatais (infarto do miocárdio e angina), a doença isquêmica cerebrovascular ou o acidente vascular cerebral (AVC) e a doença arterial periférica. A aterosclerose é o componente mais comum da doença cardiovascular, e é o processo de doença que pode comprometer a vida através da ação que desencadeia no coração e cérebro.

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica que tem a sua origem multifatorial e ocorre em resposta a agressão do endotélio, atingindo principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre (SKÁLÉN, 2002). Esta condição envolve uma série de fatores como a disfunção endotelial, estresse oxidativo e agregação de leucócitos e plaquetas, levando a um processo isquêmico (WOLBERG; MACKMAN, 2009).

### 1.2.2 Epidemiologia

As doenças cardiovasculares são consideradas a principal causa de morbidade e mortalidade por doenças crônicas nos países industrializados do século XX (LUEPKER, 2011, NABEL, 2003), sendo responsáveis por 25% a 35% das mortes nos países menos desenvolvidos (WHO, 2009). A aterosclerose afeta uma de quatro pessoas e contribui para 39% das mortes causais nos Estados Unidos (AHA,2008).

### 1.2.3 Etiologia

Um grande número de fatores de risco está relacionado ao desenvolvimento da doença aterosclerótica e ao risco para as doenças cardiovasculares, como a elevação sorológica de lipoproteínas aterogênicas (LDL, IDL, VLDL, remanescentes de quilomícrons), diminuição dos níveis de colesterol-HDL (FORRESTER et al, 2005), índice de massa corpórea (IMC) elevado, idade, gênero, hipertensão, diabetes mellitus (CHOBANIAN; BAKRIS; BLACK, 2003; OCKENE; MILLER, 1997). Além disso, alguns fatores ambientais como tabagismo, desequilíbrio dietético e sedentarismo também contribuem para o desenvolvimento da aterosclerose (KRAHULEC, 2010; ROCHA; LIBBY, 2009). Esses fatores parecem explicar uma grande parte dos casos de doenças coronarianas, contudo outros, também importantes, ainda não foram bem identificados (MATTILA, NIEMINEN; VALTONEN, 1989). Por isso todos os estímulos da inflamação provocada permanecem incompreendidos (ROOS, 1999).

A influência de agentes nocivos associados com hiperlipidemia, hipertensão, diabetes, tabagismo, homocisteinemia e outros agentes que podem alterar a homeostase da parede das artérias, causam injúria ao músculo do endotélio do vaso (ROSS, 1995). Mas uma grande parte da explicação na etiologia poderia estar atribuída na antiga teoria de que as infecções crônicas podem causar aterosclerose (LEINONEN E SAIKU, 2002).

Além do risco clássico baseado nos marcadores já bem conhecidos e a evidência disponível sobre o papel da inflamação na patogênese da aterosclerose, o consenso da Associação Americana do Coração identificou categorias de risco baseado nos níveis sorológicos da proteína C reativa (AHA, 2008).

### 1.2.4 Patogênese

A aterogênese representa a origem das doenças cardiovasculares. A disfunção endotelial é considerada uma das primeiras características do ateroma em progressão. As células endoteliais que formam a camada mais íntima da parede arterial normalmente resistem à adesão pela circulação de leucócitos. O endotélio regula o tônus vasomotor através do equilíbrio, produzindo fatores vasodilatadores, como o óxido nítrico, e vasoconstritores. Também controla a fluidez sanguínea e coagulação, produzindo fatores que interagem com as

plaquetas, com o sistema fibrinolítico e com a cascata da coagulação (WIDLANSKY, 2003). Assim, o endotélio deveria manter a função normal da parede do vaso, entretanto vários fatores com a hipercolesterolemia, o estresse oxidativo, diabetes, tabagismo e infecção podem causar a disfunção endotelial.

Os vários fatores acima citados provocam a expressão de moléculas de adesão produzidas nas células endoteliais de moléculas de adesão, que permitem a união de leucócitos à parede do vaso. As moléculas adesina-vasculares ligam os monócitos e linfócitos T, que são os tipos de leucócitos encontrados na placa aterosclerótica precoce. O acúmulo de monócitos na íntima do vaso é o evento marcante no início da lesão aterosclerótica chamada de “estria gordurosa” (LIBBY, 2002; PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007; ROSS, 1999). A estria gordurosa é de natureza inflamatória e não causa qualquer dano ao fluxo sanguíneo, sendo recrutada para a região subintimal só após o depósito de LDL nessa região (NAPOLI; MANCINI, 1997; STARY; GLAGOV, 1994).

Seguindo a aderência ao endotélio arterial, os monócitos penetram o revestimento do vaso via diapedese ou migração entre as células endoteliais e que necessitam um gradiente quimiotático para o monócito. Dentro da camada íntima, os monócitos amadurecem em macrófagos, expressam receptores varredores e fagocitam lipoproteínas modificadas. Ésteres do colesterol acumulam-se no citoplasma destes macrófagos, os quais transformam-se em “células-espuma”. Ao mesmo tempo, os macrófagos multiplicam-se e liberam vários fatores de crescimento e citocinas, as quais amplificam e sustentam os sinais pró-inflamatórios, e são importantes mediadores das fases transformadora e proliferadora (PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007).

Enquanto o acúmulo de “células espuma” é o principal evento ocorrido na listra gordurosa, o acúmulo de tecido fibroso nos vasos tipifica a lesão aterosclerótica avançada chamada de “placa complexa” que, na elaboração da matriz extracelular, promove transição para uma lesão fibrolipídica. Enquanto a placa ateromatosa estreita o lúmen dos vasos afetados e compromete o fluxo sanguíneo, as maiores sequelas da aterosclerose, como a trombose coronariana, infarto do miocárdio e derrame, desenvolvem-se após a ruptura da placa (PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007).

Na placa não-rompida, a “capa fibrosa” protege o sangue do centro lipídico da placa. Uma cápsula fibrosa intacta possui sua força biomecânica e estabilidade ao colágeno intersticial. Quando a cápsula fibrosa fratura, o sangue entra em contato com o centro lipídico e forma um trombo. As placas que rupturam e causam uma fatal trombose, em geral possuem uma cápsula fibrosa fina (PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007).

### 1.2.5 Infeção e o seu papel nos eventos cardiovasculares

Alguns estudos preliminares (ACADEMIC, ROXIS e STAMINA) avaliando o impacto da terapia antimicrobiana nas doenças cardiovasculares tem suportado a hipótese que a associação observada pode ser causal em sua natureza mostrando um efeito significativo da terapia antibiótica contra microorganismos como *Chlamydia pneumoniae* (ANDERSON et al., 1999; STONE et al., 2002); *Helicobacter pylori* (STONE et al., 2002) e na ocorrência das complicações cardiovasculares (ANDERSON et al., 1999; RIDKER et al., 2008; STONE et al., 2002). Entretanto, a evidência não é suficiente para explicar os mecanismos potenciais para estes resultados e a hipótese seria dada a partir da resposta inflamatória das infecções crônicas de baixo-grau (LIBBY, 2002). Este contexto revelou um grande interesse de que o número mínimo aumentado dos marcadores inflamatórios poderia prever com precisão os eventos cardiovasculares.

Muitos investigadores têm sugerido que a infecção crônica pode predispor o paciente às doenças cardiovasculares. Kiechl et al. (2001) avaliou 826 indivíduos com infecções crônicas do trato urinário, respiratórias, odontológicas e outras e observou que possuem maior risco para os eventos cardiovasculares e propõe este estudo uma base preliminar para futuros estudos anti-infecciosos e anti-inflamatórios associados a aterosclerose e as DCV. Também, Espinola-Klein et al. (2002) avaliou o índice médio-intimal (IMT) e a prevalência de estenose nas carótidas de 504 pacientes durante a média de 2,5 anos e, avaliando junto amostras de sangue que continham os anticorpos (IgG ou IgA) contra *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, citomegalovírus, vírus Epstein-Barr, vírus herpes simples tipo 1 e tipo 2. O autor observou que a exposição a estes patógenos contribui para a progressão da aterosclerose das artérias carótidas. Assim, outros estudos evidenciam que a incidência de eventos cardiovasculares relacionados à aterosclerose aumenta em pacientes com doenças infecciosas crônicas, incluindo as periodontites (DESVARIEUX et al., 2003) e as do trato respiratório e urinário (SMEETH et al., 2004).

### 1.2.6 Inflamação e o seu papel nos eventos cardiovasculares

A inflamação tem um papel central e contínuo na patogênese da aterosclerose e suas complicações (HANSSON, 1999; LIBBY, 2002; ROOS, 1993). A inflamação local e/ou sistêmica interfere na integridade da cápsula fibrosa pelo bloqueio da formação de novas fibras colágenas e pela estimulação da destruição do colágeno existente. Dessa forma, a inflamação influencia em todos os eventos da aterogênese, inclusive na desestabilização e a ruptura da placa, levando aos eventos cardiovasculares agudos (LIBBY, 2002; PAQUETTE; BRODALA; NICHOLS, 2007).

A ativação da resposta inflamatória envolve a participação de diversos tipos de células tais como granulócitos, linfócitos B e T, células dendríticas, células progenitoras e, principalmente, monócitos. Estes, quando ativados passam a secretar IL-1 a qual ativará os linfócitos T (CD4), os quais passam a secretar as citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-2 e o IFN- $\gamma$ , responsáveis por causarem maior ativação de macrófagos, ativação vascular e inflamação (CHARAKIDA et al., 2009). Adicionalmente, também ocorre produção de proteínas de fase aguda como PCR, AGP e fibrinogênio (HANSSON, 2005).

Muitas evidências suportam o papel da inflamação nos eventos ateroscleróticos adquiridos com o amplo uso das estatinas na prevenção primária de eventos cardiovasculares (ALBERT et al, 2001; BACKER; AMBOSIONI; BORCH-JOHSON, 2003; RIDKER et al, 1999). O estudo JUPITER (multicêntrico, duplo-cego, controlado com placebo, conduzido em 1315 centros em 26 países), por exemplo, avaliou o uso da Rosuvastatina no acompanhamento de ocorrências do desfecho primário combinado de infarto de miocárdio, acidente vascular cerebral, revascularização arterial, hospitalização devido à angina instável, ou óbito devido às causas cardiovasculares. A intervenção em 17802 indivíduos com o uso da Rosuvastatina (20mg diário) e placebo (controle) resultou em significantes reduções nos eventos cardiovasculares em sujeitos com baixos níveis de colesterol LDL, mas com níveis elevados de proteína C reativa de alta sensibilidade (RIDKER et al., 2008).

### 1.2.7 Marcadores da inflamação e doenças cardiovasculares

Os marcadores mais sensíveis utilizados para avaliar o estado inflamatório do indivíduo são a interleucina-6 (IL-6) e a proteína C-reativa altamente sensível (PCR-us) (RIDKER; GLYN; HENNEKENS, 1998; RIDKER, 2000). No entanto, a pesquisa atual vem identificando um grande número de novos marcadores de risco para os eventos cardiovasculares como os reagentes de fase aguda que são a lipoproteína associada a fosfolipase A2 e contagem de células sanguíneas brancas (MADJID, 2004), os fatores de crescimento vascular endotelial como o fator de crescimento placentário (LENDERINK et al., 2006); inibidor 1 do ativador do plasminogênio (ASO, 2007), soro fosfolipase A2 (BOEKHOLDT et al., 2004), fibrinogênio (DANESH et al., 1998) e soro amiloide A (JONHSON et al., 2004); também a enzima derivada de leucócitos como a mieloperoxidase (MEUWESE et al., 2007); as metaloproteinases da matriz extracelular que são a proteína A do plasma associado à gravidez (BAYES-GENIS et al., 2001), MMP-9 (LUBOS et al., 2006) e o inibidor tecidual de metaloproteinase-1 (CAVUSOGLU et al., 2006); CD40 ligante solúvel (KINLAY et al., 2004); outras citocinas como IL-10 (HEESCHEN et al., 2003), IL-6 (JENNY et al., 2002) e IL-1 $\beta$  (BUJAK; FRANGOIANNIS, 2009) e a proteína quimioatrativa de monócitos-1 (HOOGEVEEN et al., 2005); as moléculas de adesão celular como a molécula de adesão intercelular-1 secretora, molécula-1 de adesão de célula vascular e a sE-selectina (HWANG et al., 1997).

Desde que a proteína C-reativa (BERK; WEINTRAUB; ALEXANDER, 1990; MENDALL et al., 1996; TOSS et al., 1997) e outros marcadores sistêmicos da inflamação como a IL-6 (BIASUCCI; VITELLI; LIUZZO, 1996; MENDALL et al., 1997), têm sido identificados como fatores de risco para as doenças cardiovasculares, estudos vem sendo feitos para analisar se estes fatores são elevados nas periodontites. Por exemplo, um estudo investigou níveis sistêmicos de marcadores inflamatórios das doenças cardiovasculares, particularmente PCR, IL-6 e contagem de leucócitos, em adultos com doenças periodontal destrutiva, em comparação com indivíduos sem periodontite. Todos os níveis sistêmicos de PCR; IL-6 e neutrófilos foram mais altos nos pacientes que apresentavam periodontite, o que faz concluir que há atividade aumentada destes marcadores inflamatórios sistêmicos nas lesões ateroscleróticas, potencializando os riscos para eventos cardiovasculares (LOOS; GRAANDIJK; HOEK, 2000).

### 1.2.7.1 Proteínas de fase aguda

São proteínas presentes no soro sanguíneo e aumentam significativamente na presença de infecções, por isso são moléculas produzidas pela presença de uma lesão tecidual quando há presença de inflamação aguda e crônica; e exerce uma variedade de funções como a ativação de fatores do complemento, neutralização de patógenos bacterianos e estimulação da reparação e regeneração de uma variedade de tecidos, tendo função protetora. São produzidas pelo fígado desencadeado por um estímulo como os níveis de citocinas pró-inflamatórias aumentadas. As proteínas de fase aguda que mais têm recebido uma grande atenção ao longo dos anos são a proteína C-reativa (PCR), proteína-C reativa altamente sensível (PCR-us), inibidor do ativador do plasminogênio-1 e fibrinogênio (BLAKE E RIDKER, 2002).

#### 1.2.7.1.1 Proteína C-reativa

A proteína-C reativa (PCR) é uma proteína pentamérica produzida principalmente pelo fígado, mas também pode ser produzida pelos adipócitos, pelas células musculares lisas vasculares e também pelos tecidos gengivais (LU E JIN, 2010). A produção hepática é normalmente provocada por um estímulo inflamatório (infeccioso ou não), mediada por uma rede complexa de citocinas e como a resposta aos aumentos das interleucinas (IL-6) e fator de necrose tumoral – alfa (TNF- $\alpha$ ) (CALABRO; WILLERSON; YEH, 2003; MAAT E KLUFT, 2001). A principal resposta é aos sinais derivados dos macrófagos, primeiramente da IL-6 como parte da resposta de imunidade inata à infecção bacterina (BLACK; KUSHNER; SAMOLS, 2004).

Os métodos tradicionalmente utilizados para a dosagem do PCR não possuem uma boa sensibilidade, então recomenda-se a dosagem do PCR-us na avaliação aterotrombótica, que possui níveis de PCR geralmente mais baixos que demais processos inflamatórios (DANESH et al, 2000; LIBBY, 2002).

Os níveis de PCR frequentemente são baixos em indivíduos sadios entretanto é o marcador mais sensível em resposta a uma variedade de danos biológicos, na presença de infecções ou respondendo a uma série de estímulos inflamatórios (GABAY E KUSHNER, 1999; PASCERI; WILLERSON; YEH, 2000).



Os níveis sorológicos do PCR é o que melhor descreve o status inflamatório do indivíduo podendo avisar a presença de inflamação no organismo, mas não conseguem dizer como realmente está. Por exemplo, quantidades altas de PCR ultrasensível podem prever o infarto agudo do miocárdio, assim como a angina pectoris instável e, no início da hipertensão arterial sistêmica, as diabetes mellitus e o derrame, isso independentemente dos níveis lipídicos sanguíneos (RIDKER; GLYN; HENNEKENS, 1998).

Assim, os níveis de PCR têm assumido um papel importante preditivo para os eventos cardiovasculares futuros (CUSHMAN; ARNOLD; PSATY, 2005; DANESH; WHEELER; HIRSHFIELD, 2004; PAI; PISCHON, 2004; RIDKER et al., 1997, 2000), pois em quantidades acima da normalidade podem refletir a expressão de uma aterosclerose subclínica que é considerada um processo inflamatório por natureza (LIBBY, 2002). São vários os estudos que têm demonstrado que os níveis aumentados de PCR estão associados com o aumento do risco cardiovascular em ambos os sexos, através de uma ampla faixa etária (KOENIG et al., 1999; RIDKER; GLYN; HENNEKENS, 1998; WILSON et al., 2005).

A PCR está envolvida na disfunção endotelial, pois induz a produção de moléculas de adesão e quimiocinas pelas células endoteliais favorecendo o processo de ligação de monócitos ao endotélio, e assim aumentando da formação de células espumosas. Por isso a PCR amplifica a resposta imune e exacerba o dano tecidual (XU et al., 2011). No processo aterosclerótico, a PCR pode apresentar produção extra-hepática, por exemplo, na placa aterosclerótica ocorre uma expressão de RNA mensageiro para PCR e a presença dessa proteína pode ser detectada tanto nas células musculares lisas quanto nos macrófagos, mostrando que a sua produção local está aumentada (CHEN et al., 2012). A PCR também pode ser produzida por células mononucleares periféricas, células das artérias coronárias e células epiteliais, podendo agir localmente sobre as células endoteliais, monócitos e macrófagos ou células musculares lisas de maneira autócrina e parácrina (ROCHA; LIBBY, 2009). Além disso, a PCR ativa o sistema complemento, o qual promove a formação do complexo de ataque à membrana, com consequente lise e morte celular na placa aterosclerótica, sendo esse processo precursor dos eventos trombóticos (XU et al., 2011).

O consenso da Associação Americana do Coração (AHA) confere aos marcadores inflamatórios, em especial a PCR-us, uma grande importância e utilidade clínica para avaliar pacientes de risco às doenças cardiovasculares (PEARSON et al., 2003). Na ausência da inflamação, os níveis de PCR-us de 1mg/ml conferem um risco menor para as doenças cardiovasculares, níveis entre 1 e 3mg/ml possuem médio risco enquanto que níveis acima de

3mg/ml conferem quase o dobro do risco para as doenças cardiovasculares (MADJID et al., 2004).

As várias medidas conhecidas para reduzir o risco para as doenças cardiovasculares como parar de fumar, perder peso, controle da dieta e prática de exercícios físicos também diminuem os níveis de PCR no soro. Vários medicamentos, em particular as estatinas, são também conhecido por reduzir os níveis séricos de PCR (RIDKER et al., 2008).

Existe uma associação dos níveis altos de PCR com as doenças periodontais demonstradas em vários estudos que demonstram redução nos níveis séricos de PCR após a terapia periodontal (ACHARYA et al., 2010; EBERSOLE; CAPPELLI, 1997; FREITAS et al., 2012; IOANNIDOU; MALEKZADEH; DONGARI-BAGTZOGLOU, 2006; MATTILA et al., 2002; PARASKEVAS; HUIZINGA; LOOS, 2008; SUN et al., 2011) e também que a terapia periodontal resultaria em curta duração de inflamação sistêmica medido pelos níveis de PCR, sendo um aumento que duraria 1 mês após a terapia (D'AIUTO; PARKAR; TONETTI, 2007).

#### 1.2.7.1.2 Fibrinogênio

O fibrinogênio é outra proteína (glicoproteína hexamérica) inflamatória de fase aguda, representando um importante fator de risco para as doenças cardiovasculares favorecendo a aterogênese através de vários mecanismos, incluindo o aumento da formação de fibrina, a viscosidade plasmática, a agregação plaquetária e a proliferação de células musculares lisas contribuindo para a desorganização das células endoteliais, alterando assim a permeabilidade vascular (DAVALOS; AKASSOGLOU, 2012; HOPPE et al., 2012).

O aumento das concentrações de fibrinogênio estão associados com o desenvolvimento ou a presença da doença aterotrombótica, a calcificação da artéria coronária e o espessamento médio-intimal da artéria carótida (BALDASSARRE et al., 2008; BIELAK et al., 2000; DANESH et al., 1998; ERNST E RESH, 1993; GREEN et al., 2009).

### 1.2.7.2 Citocinas

As citocinas são um grupo de proteínas que emitem sinais entre as células desencadeadas pela resposta imune. Existem mais de 200 citocinas incluindo as interleucinas, fatores de crescimento, quimiocinas e interferons que estão organizadas em redes complexas desempenhando papéis fundamentais nos processos pró e anti-inflamatórios das doenças cardiovasculares e das periodontites. São classificadas funcionalmente como mediadoras e reguladoras de imunidade inata produzidos pelos macrófagos e estimuladas pelos microorganismos estimulando ou inibindo reações inflamatórias que são a IL-1, IL-6, IL-12, IL-16, TNF- $\alpha$ , INF $\alpha$ , INF $\beta$ ; e como mediadores de regulação da imunidade específica produzidas em resposta à ativação dos linfócitos T potencializando as reações imunitárias que são IL-2, IL-4 e INF $\gamma$  e ainda existem os estimuladores da proliferação e diferenciação dos precursores hematopoiéticos.

A taxa de sedimentação dos eritrócitos, quimiocinas, citocinas, incluindo IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF- $\alpha$ , e proteína-1 quimiotrativa de monócitos também são frequentemente anormais em pacientes com síndromes coronarianas agudas (ARMSTRONG; MORROW; SABATINE, 2006; INOUE et al., 2008; NATALI; L'ABBATE; FERRANNINI, 2003). Além disso, os indivíduos com periodontite têm concentrações mais elevadas de citocinas pró-inflamatórias circulantes, e os sujeitos com ambas doenças, cardiovasculares e periodontite mostraram níveis significativamente mais altos de citocinas quando comparados com a presença de apenas uma das doenças (GORSKA E NEDZI-GORA, 2006; HIGASHI et al., 2009).

#### 1.2.7.2.1 Interleucinas

As interleucinas são proteínas secretadas principalmente pelas células T mas também por macrófagos e algumas células teciduais, que se ligam a receptores específicos e tem um importante papel na ativação dos linfócitos e na indução da divisão de diferentes tipos de células. As interleucinas compreendem em 37 subgrupos, entre eles os mais estudados devido a forte associação as doenças cardiovasculares são IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18.

O principal método para medir as concentrações das interleucinas é o ensaio imunoenzimático sanduíche (ELISA) (MIRE-SLUIJS; GAINES-DAS; THORPE, 1995). Entretanto, não é possível determinar com precisão o perfil das várias citocinas no sangue pois este teste detecta apenas uma pequena fração das citocinas faltando discriminar as moléculas realmente ativas e inativas (MALONE et al., 2001).

#### 1.2.7.2.2 Interleucina 1

IL-1 é o nome de duas proteínas, a IL-1 alfa e IL-1 beta, que são os produtos de genes distintos, mas reconhecem os mesmos receptores da superfície celular. IL-1 alfa e IL-1 beta são estruturalmente polipeptídeos que apresentam aproximadamente 25% de homologia ao nível de aminoácidos relacionada.

A IL-1 é secretada pelos macrófagos e células epiteliais sendo que a sua principal função na aterogênese é a capacidade de aumentar a expressão de moléculas de adesão e estimular a produção de proteínas inflamatórias de fase aguda pelo fígado (PCR). A IL-1, juntamente com o IFN- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$ , promove o crescimento de fibroblastos e a síntese de colagenases, além de estimular linfócitos T e a proliferação de células musculares lisas (CHARAKIDA et al., 2009).

A IL-1 tem um efeito pró-aterogênico que é sua capacidade de modular os eventos envolvidos no processo inflamatório presentes da disfunção endotelial como a quimiotaxia dos leucócitos e adesão ou ruptura da placa (BOCHNER et al., 1991; LIBBY et al., 1995; WAEHRE et al., 2004).

#### 1.2.7.2.3 Interleucina 6

A interleucina 6 é um importante ativador das células imunes envolvidas no início do processo inflamatório sistêmico e também estimulando ações dos hormônios (WILERSON E DIKER, 2004). Tem atividade antiinflamatória e próinflamatória, sendo sintetizada pelos monócitos, fibroblastos e células endoteliais. Estimula a diferenciação de linfócitos B e a ativação de linfócitos T. Regula a expressão de outras citocinas inflamatórias, como a IL-1 e

o TNF- $\alpha$ , e promove a quimiotaxia de leucócitos e mitogênese de células musculares lisas (FUTTERMAN; LEMBERG, 2002). A IL-6 também estimula a produção de fibrinogênio, PCR e AGP; induz os macrófagos a produzir o fator tecidual e metaloproteinases da matriz; estimula a agregação plaquetária e a expressão de moléculas de adesão. Juntamente com as demais citocinas pró-inflamatórias, a IL-6 é um importante ativador de células imunes participando da instabilização da placa aterosclerótica (DA SILVA; MORESCO, 2011; YAMAGAMI et al., 2004).

#### 1.2.7.2.4 Interleucina 10

A interleucina 10 é uma citocina anti-inflamatória que exerce ação inibitória sobre os macrófagos e linfócitos T, interferindo na produção de uma variedade de citocinas inflamatórias, tais como IL-1, IL-2, IL-6, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  e possui uma associação forte ao melhor prognóstico em pacientes com síndrome isquêmica aguda (HEESCHEN et al., 2003; PESTKA et al., 2004;). É produzida pelos linfócitos T (CD4), macrófagos, células *natural killer*, células dendríticas e células T reguladoras.

A IL-10 é uma das mais importantes citocinas inibidoras da ativação da resposta imune na aterosclerose por inibir a apoptose e a geração de espécies reativas de oxigênio além de suprimir a expressão de moléculas de adesão e co-estimulação (BINDER et al., 2002). A redução do volume da placa de ateroma é influenciada pelos níveis de IL-10, uma vez que esta citocina pode inibir mecanismos de relação direta a progressão da aterosclerose como a produção de citocinas pró-inflamatórias via fator de transcrição nuclear kappa B, a apoptose de macrófagos, a expressão do fator tecidual, o fibrinogênio e a proliferação de células musculares lisas (NG; BURRIS; NAGARAJAN, 2011).

Assim, os níveis séricos da IL-10 aparecem reduzidos em pacientes com síndromes coronarianas agudas (SMITH et al., 2001), e a sua ausência pode favorecer a instabilidade da placa e o desenvolvimento de síndromes coronarianas agudas

#### 1.2.7.2.5 Interferon gama

O IFN $\gamma$  é uma das principais citocinas pró-aterogênicas, devido a seu papel na ativação de macrófagos, na participação da maturação de linfócitos B e no estímulo da síntese de anti-oxLDL. Além disso, induz apoptose de macrófagos, estando envolvido na característica necrótica e pró-aterogênica das lesões avançadas do processo aterosclerótico (LI et al., 2011).

#### 1.2.7.3 Fator de necrose tumoral-alfa

O TNF é uma citocina que participa das inflamações sistêmicas e também participa em conjunto com outras citocinas da reação inflamatória de fase aguda. O TNF-alfa é um importante marcador preditivo para os eventos das doenças cardiovasculares e mortalidade total entre os homens (TUOMISTO et al., 2006). É produzido principalmente por macrófagos/células espumosas, as células T ativadas, as células do músculo liso e as células endoteliais (RECKLESS et al., 1999).

A principal atividade do TNF- $\alpha$  é ativar monócitos e neutrófilos, bem como aumentar a expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais, promovendo a ligação de leucócitos ao endotélio no sítio da inflamação (BERK et al., 2001; MACKESY; GOALSTONE, 2011; RIDKER et al., 2000), induzindo a disfunção endotelial (PICCHI et al., 2006).

Além disso, este marcador produz outras citocinas, como a expressão de quimiocinas (ZHAO et al., 2003) e a expressão da MMP-9 (SAREN; WELGUS; KOVANEN, 1996) que aumentariam a instabilidade da placa. Quando secretado em grandes quantidades, provoca prejuízo das propriedades anticoagulantes normais do endotélio (OLSON et al., 2012). Além disso, o TNF- $\alpha$  associado a IL-1, favorece a expressão de um receptor para oxLDL na superfície de células musculares lisas, nas células endoteliais e nos macrófagos, sendo que nestes é encontrado na forma inativa, favorecendo assim, a formação de células espumosas e ampliando o processo inflamatório (PARK; LAKATTA, 2012).

### 1.2.8 Disfunção endotelial

É função do endotélio normal manter a integridade do vaso regulando a coagulação, inflamação e remodelamento. Segundo Ross (1993), a disfunção endotelial é o comprometimento da função endotelial que ocorre na fase precoce da aterosclerose e na sua progressão. Tem sido aceitável que a disfunção endotelial é um precursor comum e denominador dos eventos cardiovasculares incluindo o desenvolvimento da aterosclerose (SCHACHINGER; BRITTEN; ZEIHNER, 2000).

Medidas não invasivas fluxo-mediadas de vasodilatação da artéria braquial é um marcador útil e confiável para avaliar a disfunção endotelial mais utilizado (CELERMAJER; SORENSEN; BANJAMIN, 1992; CHARAKIDA et al., 2010; CORETTI; ANDERSON; BENJAMIN, 2002). A ultrassonografia de alta resolução tem sido utilizada para a obtenção de medidas de espessura da camada íntima e média das artérias carótidas, por apresentar positiva associação entre os fatores de risco cardiovasculares (O'LEARY; POLAK; WOLFSON, 1991, O'LEARY; POLAK; KRONMAL, 1992), podendo predizer acidentes vasculares sistêmicos futuros (AMINBAKHSI, 1999).

#### 1.2.8.1 Índice médio-intimal das artérias carótidas

A espessura da camada íntima-média da artéria carótida (IMT) é uma medida clínica não invasiva da aterosclerose que está associada aos fatores de risco para as doenças cardiovasculares (CHAMBLESS et al., 1997; HODIS et al., 1996, 1998; O'LEARY et al., 1996, 1999). O índice médio-intimal é a distância que vai da interface lúmen-íntima à interface média-adventícia da parede do vaso e é medida pela ultrassonografia modo-B.

A ultrassonografia modo-B é um aparelho não invasivo e altamente confiável para os estágios precoces de aterosclerose. Este procedimento vem sendo muito aplicado para a monitoração do IMT das artérias carótidas (TOUBOL et al., 2007). No entanto, as medições do IMT não estão estritamente ligadas aos eventos cardiovasculares como o infarto e o acidente vascular cerebral (TOUBOL et al., 2012)

Quando as medidas de espessura da artéria carótida comum e das artérias carótidas internas são combinadas existe uma mais forte associação com a prevalência de doenças

cardiovasculares e fatores de risco tradicionais do que se utilizadas sozinhas (O'LEARY et al., 1996). Um estudo investigou a hipótese de a espessura da camada íntima-média das artérias carótidas estar associada com a incidência do infarto agudo do miocárdio e do acidente vascular cerebral em 4476 adultos com 65 anos ou mais, sem a presença prévia de doença cardiovascular. Os resultados mostraram uma associação positiva. A combinação das medidas de espessura das artérias carótidas internas é um significativo preditivo dos eventos cardiovasculares (O'LEARY et al., 1999).

Outro estudo, para determinar se a espessura da camada íntima-média da artéria carótida prediz os eventos cardiovasculares, fez uma análise longitudinal de acompanhamento (8,8 anos) em 146 homens de 40 a 59 anos de idade. Os resultados mostraram que em cada 0,03mm de aumento por ano na espessura da camada íntima-média da artéria carótida, o risco relativo para qualquer evento cardiovascular foi de 3.1 ( $P<0,001$ ). A espessura íntima-média foi também relacionada ao risco para eventos coronarianos clínicos ( $P<0,02$ ). A espessura e a sua progressão predizem mais risco de eventos coronarianos do que medidas das artérias coronarianas de aterosclerose e medidas lipídicas ( $P<0,0001$ ). Por isso, as medidas não invasivas de ultrassom modo-B, de progressão da espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum, constituem o método mais utilizável para diagnóstico dos eventos clínicos coronarianos (HODIS et al., 1998).

Em indivíduos normais, a espessura máxima do complexo médio-intimal da artéria carótida comum pré-bifurcação é de 0,8mm. Valores acima de 0,9mm e menores que 1,4mm são considerados como espessamento ou aterosclerose subclínica. Quando a espessura ultrapassa 1,4mm, caracteriza-se como placa de ateroma (BALDASSARRE et al., 2000; LORENZ et al., 2006; TOUBOL et al., 2007).

### 1.2.9 Lipídios

Os biomarcadores lipídicos específicos são identificados como os triglicerídeos (TG), colesterol total sorológico (CT), e o colesterol de alta (HDL) e baixa densidade (LDL) e são os lipídios tradicionalmente conhecidos na associação com as doenças cardiovasculares (LIBBY, 2002), e ainda os lipídios que sofreram ação do estresse oxidativo como o LDL oxidado (oxLDL). São muitos os estudos que demonstram que a redução nos níveis de LDL



pode influenciar positivamente na redução da morbidade para os eventos cardiovasculares (BAIGENT et al., 2010; CHAPMAN et al., 2011).

As diretrizes atuais guiam a avaliação do LDL devendo ser menores que 100mg/dL em pacientes com doenças cardiovasculares estabelecidas e menores que 70-80mg/dL em pacientes com muito alto risco para as doenças cardiovasculares. Além disso, o colesterol deveria ser menor que 174mg/dL para reduzir o risco futuro de doenças cardiovasculares (REINER et al., 2011).

Os estudos mostram uma correlação inversa entre o HDL e os eventos cardiovasculares (BREWER, 2004). Níveis séricos muito baixos de HDL (<40mg/dL) poderiam aumentar significativamente o risco de doenças cardiovasculares (KONTUSH E CHAPMAN, 2006).

Os triglicerídeos também são considerados um fator de risco para as doenças cardiovasculares, não sendo diretamente aterogênicos mas existem associação com as proteínas pró-aterogênicas (CHAMPMAN et al., 2011; TALAYERO E SACKS, 2011).

#### 1.2.9.1 oxLDL e anti-oxLDL

A aterogênese inicia-se a partir da oxidação do colesterol LDL induzido por radicais livres produzidos pelos macrófagos, células endoteliais e células musculares lisas e o depósito na parede arterial promovendo o dano endotelial (ARMSTRONG; MORROW; SABATINE, 2006; GAUTIER; JAKUBZICK; RANDOLPH, 2009; HARRISON et al., 2003; HEINECKE, 1998). A oxLDL é reconhecida pelos macrófagos através de receptores que englobam lipoproteínas modificadas (especialmente a oxLDL), dando origem às células espumosas (foam cells). Posteriormente, a oxLDL induz as células endoteliais a expressar moléculas de adesão, permitindo que os monócitos e os linfócitos T possam se aderir às células endoteliais, e também há a secreção da proteína quimiotática de monócitos que estimula a migração destas células para o espaço endotelial, desempenhando um papel fundamental na progressão da aterosclerose.

A oxLDL induz os linfócitos B a produzirem anticorpos contra o colesterol oxLDL (anti-oxLDL), a produção de mediadores inflamatórios como a proteína C-reativa (PCR), a interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), (ARMSTRONG; MORROW; SABATINE, 2006; EMMANUEL, 2009).

### **1.3 Histórico da associação das doenças infecciosas e inflamatórias com as doenças sistêmicas**

A associação entre as infecções e as doenças sistêmicas tem sido reportada há vários séculos. O efeito da saúde bucal no corpo humano foi proposto há longa data pelos Assírios, ainda no século VII a. C. Mas a jornada começa mesmo em 1674, quando Antony van Leeuwenhoek descobriu os “micróbios”, analisando a substância raspada do dente com microscópio. Duas centenas de anos mais tarde, em 1876, Robert Koch propôs a “germ theory of disease”, sugerindo que as bactérias poderiam causar doença (O'REILLY; CLAFEY, 2000). Ao mesmo tempo, Edward Jenner, Joseph Lister e Louis Pasteur também afirmaram que os germes poderiam ser causadores das doenças. Em 1879, Willoughby D. Miller convenceu-se de que a boca era um foco de infecção e de que a bactéria da boca poderia explicar muitas doenças. Simultaneamente, Willian Hunter investigou a causa das doenças dos pacientes (MILLER, 1891).

Em 1911, Willian Hunter formalizou o conceito de doença focal (HUNTER, 1910). Os práticos da odontologia começaram a anunciar que 100% dos pacientes deveriam remover todos os dentes para prevenir as doenças sistêmicas. São mais de 330 anos desde que a bactéria foi descoberta e 130 anos que a bactéria foi implicada nas causas das doenças. Tem sido uma grande jornada de três séculos de descoberta, e ainda talvez esteja só começando (WILLIAMS, 2008). Desde então, um grande número de estudos tem sido publicado que as infecções crônicas podem estar associadas com os eventos cardiovasculares (DANESH; WHEELER; HIRSHFIELD, 1997; GUPTA, 1999; VALTONEN, 1991).

### **1.4 Associação das doenças periodontais com as doenças cardiovasculares**

A associação das doenças periodontais com as doenças cardiovasculares vem sendo reportada nas últimas décadas, e provavelmente o estudo mais antigo publicado foi em 1963, onde os autores primeiramente observam a relação entre diabetes, perda óssea alveolar e alterações arteriais. Observou-se que somente o grupo que exibiu maior perda óssea do que o controle pertencia aos sujeitos do grupo que tinha aterosclerose (MACKENZIE; MILLARD, 1963).

Outro estudo pioneiro que investigou em dois estudos caso-controle separados de um total de 100 pacientes com infarto agudo do miocárdio e 102 controles selecionados randomicamente, observou que a doença periodontal é mais comum entre pacientes com infarto agudo do miocárdio do que entre os controles (MATTILA; NIEMINEN; VALTONEN, 1989). Também na mesma época, outros estudos pioneiros estavam sendo feitos, mostrando que pacientes com infarto agudo do miocárdio tinham mais alta prevalência de doença periodontal (SIMONKA; SKALERIC; HOJS, 1988) e que a inflamação periodontal poderia estar relacionada com a aterosclerose (BUHLIN et al., 2002).

A periodontites, assim como as doenças cardiovasculares são doenças crônicas que possuem fatores de risco em comum, como a idade (associação positiva), gênero (maior em homens), educação (associação negativa), situação sócio-econômica (associação negativa), diabetes (associação positiva), estresse (associação positiva), obesidade (associação positiva), tabagismo (associação positiva), uso frequente do álcool (associação positiva) e hipertensão arterial (associação positiva) (BECK et al., 1996; FRIEDWALD et al., 2009). Esses fatores de riscos comuns indicam que a doença periodontal e as doenças cardiovasculares podem compartilhar o meio etiológico comum como é proposto nos estudos.

Atualmente, vários estudos têm publicado que a periodontite pode estar associada com os eventos cardiovasculares (BAHECAR et al., 2007; BECK et al., 1996; GRAU et al., 1997; MATTILA; NIEMINEN; VALTONEN, 1989; PAUNIO et al., 1993). A explicação dos estudos atuais dizem que as infecções sistêmicas de baixo grau com as suas respostas de fase aguda moderadas podem acelerar a formação de placas de ateroma com consequente aumento do risco para eventos cardiovasculares futuros (DANESH et al., 2000).

Durante a doença periodontal, os patógenos periodontais estimulam respostas imunoinflamatórias locais e sistêmicas. As respostas locais a estas bactérias e seus subprodutos são caracterizadas por um infiltrado nos tecidos periodontais, incluindo os neutrófilos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Os macrófagos ativados liberam citocinas e alguns indivíduos respondem com um alto nível de mediadores inflamatórios, como a prostaglandina-E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), a interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) como sendo os principais.

O mecanismo que tem sido proposto está baseado nos patógenos bacterianos, antígenos, endotoxinas, e citocinas inflamatórias da periodontite que contribuem ao processo de aterogênese e eventos tromboembólicos. Em resposta a infecção e a inflamação, os indivíduos mais suscetíveis podem exibir maior expressão dos mediadores locais e sistêmicos

e pode ter o risco aumentado para o infarto do miocárdio e derrame (BECK; SLADE, 1996, BECK et al., 1998).

Assim, as duas explicações baseiam-se nos estudos publicados da associação seria que a carga infecciosa crônica que a periodontite pode representar para o organismo através do acesso de microorganismos e endotoxinas; e a outra que o periodonto doente funcionaria como uma fonte de mediadores inflamatórios sistêmicos. Independente do mecanismo subjacente, a inflamação sistêmica parece ser o centro da explicação da natureza que liga infecção crônica e aterosclerose (KOEING et al., 2001, LIBBY, 2002).

O mecanismo explicativo está baseado na infiltração de bactérias e os seu produtos na corrente circulatória que ativa a resposta inflamatória por múltiplos mecanismo, e assim a resposta imune no indivíduo favorece a formação, maturação ou exacerbação da placa de ateroma. A figura 1 montada por Tonnetti e Van Dyke (2013) está baseada em dois estudos de revisão que chegaram neste consenso (REYES et al., 2013; SCHENKEIN E LOOS, 2013).

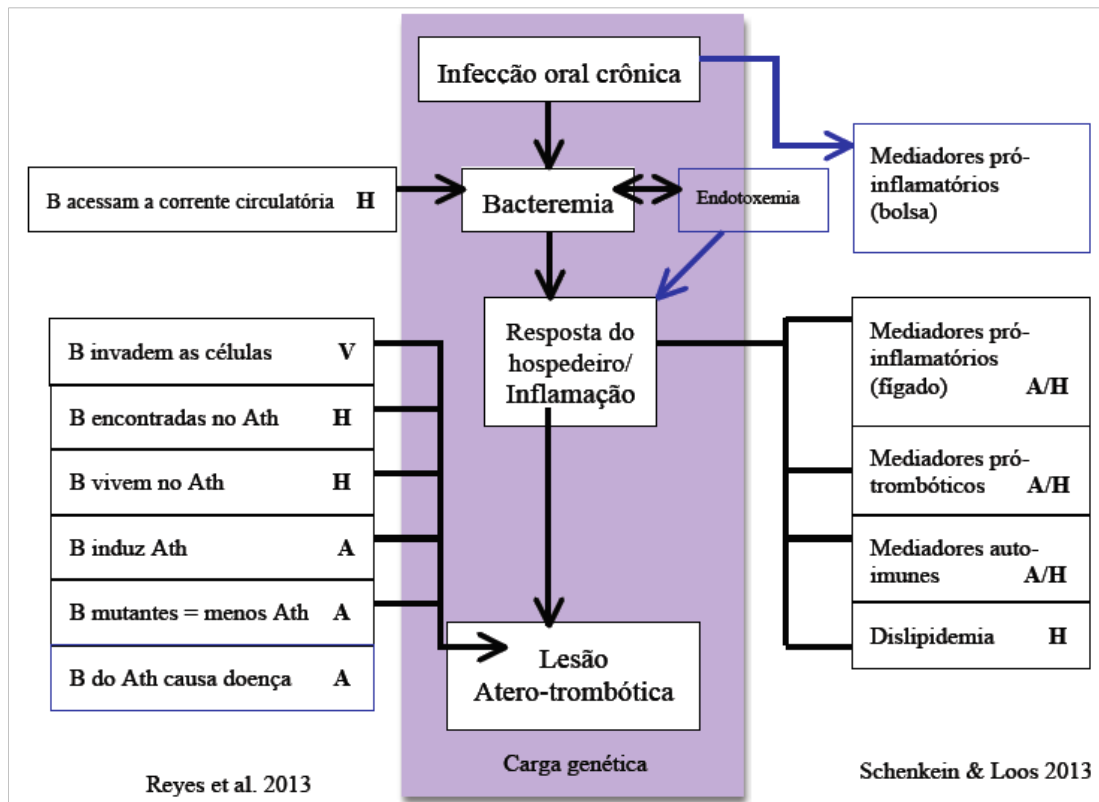


Figura 1- Mecanismo explicativo da associação da infecção oral e aterosclerose (adaptado de Tonetti, 2013). Ath – Ateroma; B – Bactéria; H – Estudos em humanos; A – Estudos em animais; V – Estudos in vitro. Borda azul indica nenhuma ou limitada evidência.

#### 1.4.1. Estudos de plausibilidade biológica

Os estudos recentes verificam a possibilidade da presença de patógenos periodontais nas placas ateroscleróticas. O impacto da inoculação oral com o patógeno periodontal *Porphyromonas gingivalis* na aterogênese em ratos hipercolesterolêmicos foi estudado. Os resultados mostraram que os ratos com maior propensão a aterosclerose e com a presença de *Porphyromonas gingivalis* por via de rota oral ao hospedeiro podem aumentar a inflamação vascular e a formar a lesão aterosclerótica precoce (LALLA et al., 2003).

Após pesquisar a presença de múltiplos agentes infecciosos em 33 espécies de carótidas humanas, usando imunocorantes com anticorpos monoclonais específicos, teve como resultado 63,6% de *Clamidia pneumoniae*, 42% de CMV, 9% de vírus herpes simples, 42% *Porphyromonas gingivalis* e 12% de *Streptococcus sanguis* (CHIU, 1999).

Outro estudo analisou cateteres-balão retirados de angioplastias coronarianas, pela reação em cadeia polimerase, para verificar a presença dos agentes infecciosos *Clamidia pneumoniae*, vírus herpes simples, CMV, *Helicobacter pylori* e dos patógenos periodontais *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Bacteroides forsythus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Campylobacter rectus*. O resultado mostrou que 78,7% foram positivos para um ou mais dos microrganismo analisados (DIAS, 2002).

Com relação aos patógenos periodontais, um estudo identificou pela primeira vez na literatura, o DNA dos patógenos nos ateromas. Para testar a hipótese, 50 espécimes humanas obtidas durante a endarectomia foram examinadas. Como resultado, dos 50 ateromas analisados, houve positividade para a presença de DNA (44%) para pelo menos um patógeno periodontal. Desses, o *Bacteroides forsythus* foi o mais frequente (30%), seguido por *Porphyromonas gingivalis* (26%), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (18%) e *Prevotella intermedia* (14%) (HARASZTHY et al., 2000). Outro estudo demonstrou a presença de *Porphyromonas gingivalis* e do *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* nas placas ateroscleróticas em um paciente do sexo masculino, 74 anos e 80% de obstrução das carótidas após submetido a endarectomia (KOSAROV et al., 2005).

A análise de pedaços da artéria carótida através da endarectomia mostrou a presença de dois grandes odontopatógenos nas placas ateroscleróticas, que são a *Porphyromonas gingivalis* e *Streptococcus sanguis* (CHIU, 1999). A presença das bactérias e de mediadores inflamatórios como as endotoxinas e citocinas bacterianas na corrente circulatória que causa a

fase reagente aguda levando a atividade inflamatória aumentada nas lesões ateroscleróticas (KINANE; LOWE, 2000; LOOS; GRAANDIJK; HOEK, 2000).

#### 1.4.2 Estudos epidemiológicos

Um grande número de estudos epidemiológicos vêm reportando uma crescente evidência que a inflamação (PACKARD E LIBBY, 2008), a infecção crônica (DANESH et al., 1997; GUPTA, 1999; VALTONEN, 1991) e que a periodontite (BECK; SLADE, 1996; GRAU, 1997; MATTILA; NIEMINEN; VALTONEN, 1989; PAUNIO et al., 1993) podem estar associados ou podendo aumentar o risco para as doenças cardiovasculares. Todavia, os resultados desses estudos levantam dúvidas devido à presença de uma série de fatores de confusão ligados às doenças cardiovasculares, como idade, sexo, DM, tabagismo e história familiar, e também por apresentarem resultados divergentes após a análise de um mesmo tipo de estudo (BECK E OFFENBACHER, 2001; GENCO; OFFENBACHER; BECK, 2002; HOWELL et al., 2001; HUJOEL et al., 2002).

Vários estudos transversais prospectivos suportam uma associação fraca mas consistente entre risco cardiovascular e periodontite. Os indivíduos com periodontite tinham em média 14-15% maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares a partir de estudos prospectivos, enquanto a razão aumentou para mais de 100% ao analisar estudos caso-controle em comparação com indivíduos saudáveis (BAHECAR et al., 2007).

Um estudo epidemiológico, coorte prospectivo, analisou 20749 indivíduos a respeito de doenças bucais e sistêmicas nos anos 1971 a 1974. Todos os indivíduos foram acompanhados até o ano de 1982 e entre 1982 e 1985. Nos anos de 1986 e 1987, todos os indivíduos acompanhados foram 90% dos indivíduos inicialmente analisados. Foram controlados vieses de confusão como idade, sexo, raça, educação, estado civil, pressão arterial, colesterolemia, índice de massa corporal, diabetes, consumo de álcool, tabagismo, sedentarismo e nível socioeconômico. Os resultados mostraram que pacientes com periodontite apresentavam um risco de doenças cardiovasculares, em média de 25%, se comparados aos sujeitos com pouca ou nenhuma doença periodontal. Em homens com menos de 50 anos de idade, o risco relativo de mortalidade por doenças cardiovasculares foi 2.6 comparando-se com indivíduos da mesma faixa etária sem doença periodontal (DESTEFANO et al., 1993).

Em um estudo, foram avaliados 2280 homens livres de doenças crônicas em relação a fatores de risco cardiovasculares (baseline). No estudo odontológico longitudinal, 1221 indivíduos que estivessem participando do estudo normativo de envelhecimento, recebendo exames dentais completos, com avaliação clínica e radiográfica periodontal, em intervalos de três anos, até completar um total de 18 anos de acompanhamento. Uma amostra de 1147 indivíduos sem doença cardiovascular e com doença periodontal foi obtida; deste 207 (casos) desenvolveram doenças cardiovasculares, enquanto os outros 940 (controles) não apresentaram alterações cardiovasculares no mesmo período. Desta forma, o autor conclui que a doença periodontal, em comparação com outros fatores de risco, parece estar associada a um aumento no risco a doenças cardiovasculares (BECK et al., 1996).

Um estudo epidemiológico de associação da doença periodontal e perda dentária com a aterosclerose subclínica, envolveu 711 sem história de infarto do miocárdio. Os voluntários submeteram-se ao exame periodontal, medidas de fator de risco para a doença cardiovascular e o exame de ultrassonografia de carótidas (ultrassom modo-B de alta resolução). Os resultados mostraram uma significativa associação entre perda dentária e prevalência de placa na artéria ( $P=0,05$ ), sugerindo que a perda dentária como um marcador de doença periodontal passada estaria relacionada a aterosclerose subclínica, desta forma como um potencial meio relacionado aos eventos cardiovasculares (DESVARIEUX et al., 2003).

Em um estudo prospectivo da análise da etiologia e história natural da aterosclerose e da doença clínica cardiovascular em quatro comunidades dos Estados Unidos (amostra de 15 792 indivíduos) mostrou que os sinais clínicos de doença periodontal não foram associados com doença cardíaca coronariana, enquanto que a resposta de anticorpos sistêmicos mostrou-se associada, tanto em fumantes como em não-fumantes. Esses resultados indicam que a qualidade e a quantidade de resposta do hospedeiro às bactérias orais pode ser mais relevante na associação aos eventos aterotrombóticos coronarianos do que medidas clínicas (BECK et al., 2005).

Um estudo coorte mais recente avaliou 1400 homens dentados com idade entre 60 e 70 anos mostrou um risco significativo de mortalidade para aqueles que tinham perda severa de inserção periodontal (LINDEN et al., 2012), assim como outros pesquisadores já haviam reportado uma alta taxa de mortalidade naqueles indivíduos com um nível mais alto de perda de inserção (DESTEFANO et al., 1993; GARCIA; KRALL; VOKONAS, 1998; THORSTENSSON E JOHANSSON, 2009).

Para determinar se a doença periodontal está associada com disfunção endotelial e inflamação sistêmica, um estudo avaliou a dilatação fluxo-mediada e a dilatação

nitroglicerina-mediada da artéria braquial utilizando o ultrassom vascular em 26 sujeitos com doença periodontal avançada em 29 sujeitos controles. Foram critérios de exclusão os sujeitos que tiveram história de DCV, diabetes mellitus, hipertensão, hipercolesterolemia, tabagismo, ou outra doença sistêmica e se estivessem tomando medicações antiinflamatórias, vasoativas ou controle-lipídicas. Houve disfunção vasomotora na artéria braquial e níveis elevados de proteína C-reativa ultrasensível nos pacientes saudáveis com doença periodontal severa em comparação com os sujeitos saudáveis controle. Os achados deste estudo promovem uma explicação mecanística forte para os vários estudos epidemiológicos que sugerem uma associação do estado inflamatório crônico com as doenças cardiovasculares (AMAR; HAN, 2003).

Um estudo longitudinal foi desenvolvido para comparar condições periodontais (periodontite, gengivite e saúde periodontal) com eventos cardiovasculares (1971-1975). A amostra foram 8032 indivíduos dentados que foram examinados em quatro acompanhamentos completos em 1982, 1984, 1987 e 1992. No baseline foram feitos exames médicos, testes laboratoriais, exames odontológicos, diário alimentar e dados demográficos. Os fatores de risco cardiovasculares avaliados foram a pressão arterial, colesterolemia, DM, atividade física, peso e altura, consumo de álcool, tabagismo e história de colapso nervoso. A situação periodontal foi avaliada de acordo com o índice de Russel, classificando os indivíduos com periodontite (bolsa periodontal com perda de inserção), gengivite (inflamação diagnosticada por aumento de volume, vermelhidão ou sangramento) e saúde. Sem realizar ajustes para fatores de risco, indivíduos com periodontite apresentaram um risco relativo de 2.66 para a ocorrência de algum evento cardiovascular durante o acompanhamento se comparados àqueles sem doença, porém, após feitos os ajustes para os vieses de confusão, o risco relativo foi diminuído para 1.14. Os resultados deste estudo não fornecem evidências de que a doença periodontal esteja associada com o aumento de risco de desenvolver doenças cardiovasculares, por ser um aumento não significativo no risco (HUJOEL et al., 2000).

Para investigar a relação entre microbiota periodontal e aterosclerose subclínica, um estudo chamado INVEST (Estudo Epidemiológico das Infecções Orais e Doenças Vasculares) recrutou 1056 adultos sem história de infarto ou acidente vascular cerebral e analisou 657 sujeitos que possuíam dentes. Foram coletadas 4561 amostras de placa subgengival (em torno de 7 amostras por sujeito) para identificação de 11 periodontopatógenos conhecidos (*A. actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis*, *T. denticola*, *T.forsythensis*, *C.rectus*, *E.corrodens*, *F.nucleatum*, *M.micros*, *P.intermedia*, *A.naeslundii*, *V.parvula*). As medidas de fator de risco cardiovasculares foram: ultrassonografia de carótidas com aparelho de ultrassom de alta



resolução modo-B, contagem de células sanguíneas brancas e valores de proteína-C reativa. Os valores de proteína-C reativa não foram relacionados ao estado microbiológico periodontal ( $P=0,082$ ), contudo houve uma evidência de relação direta entre microbiologia periodontal e aterosclerose subclínica ( $P=0,002$ ) e valores de células brancas sanguíneas ( $P=0,01$ ). (DESVARIEUX et al., 2003, 2005).

Vários outros estudos observacionais sugerem uma moderada e forte associação entre IMT e periodontite (BECK; OFFENBACHER, 2001; CAIRO et al., 2008; CASTAGNA, 2009; FRANEK et al.; 2006; LEIVADAROS et al., 2005; LI et al., 2009; VIEIRA et al., 2011).

#### 1.4.3 Estudos de intervenção

A associação das infecções crônicas com as doenças ateroscleróticas é hoje suportado por um grande número de evidências epidemiológicas e a conclusão destes estudos levou aos pesquisadores a acreditar nos potenciais benefícios do tratamento para reduzir a carga infecciosa e, assim diminuir o risco das doenças cardiovasculares, o que gerou muitos estudos de intervenção antimicrobiana para estabelecer a causalidade da associação (ANDERSON et al, 1999; STONE et al., 2002).

Vários estudos de intervenção analisaram o impacto da terapia periodontal nos níveis séricos das interleucinas (D'AIUTO et al., 2004, 2006; TONETTI et al., 2007). Dois ensaios clínicos randomizados (D'AIUTO et al., 2004, 2006) demonstraram uma redução nos níveis séricos de IL-6 em indivíduos sistemicamente saudáveis sofrendo periodontite após 2 e 6 meses da terapia periodontal. Sendo que o primeiro, foi um estudo piloto com 94 indivíduos, sem grupo controle e o segundo foi realizado com 40 indivíduos, sendo que a metade não recebeu o tratamento, portanto com grupo controle.

Outros estudos de intervenção mostraram redução significativas nos níveis sorológicos de PCR e IL-6 após 24 semanas do tratamento periodontal no grupo tratado, porém em indivíduos com ambas as doenças periodontal e cardiovascular (HIGASHI et al., 2008), redução significativa dos níveis sorológicos de PCR, IL-6 e TNF- $\alpha$  após 3 meses do tratamento periodontal no grupo tratado, em indivíduos com diabetes tipo 2 (SUN et al., 2011), redução significativa dos níveis sorológicos de PCR, IL-6 e fibrinogênio após 3 meses do tratamento periodontal no grupo tratado em pacientes com hipertensão arterial refratária

(VIDAL, 2009) e aumento significativa dos níveis sorológicos de PCR após 3 meses do tratamento periodontal em pacientes com hiperlipidemia (FENTOGLU et al., 2010). Entretanto existem alguns estudos relatando nenhum resultado significativo da terapia periodontal nos níveis séricos de vários marcadores inflamatórios incluindo IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e fibrinogênio (LALLA et al., 2007) em 10 indivíduos após 4 semanas da terapia periodontal, mas o autor mesmo relata ter pouco poder o seu estudo já que é pouca a amostra analisada (n=11), por ser um estudo piloto. Outro estudo negativo, Pischon et al. (2007) avaliou 21 indivíduos após 6 meses de terapia periodontal intensiva utilizando antibióticos e não obteve resultados significativos para IL-6; somente reduções significativas para E-selectina e fibrinogênio e ainda avaliou triglicérides, colesterol total, colesterol HDL e LDL afirmando que estes não são afetados pela terapia periodontal. Ainda, Correa et al. (2010) avaliou 23 indivíduos após 3 meses de terapia periodontal e observou reduções significativas de TNF- $\alpha$  e fibrinogênio, e reduções porém não significativas marcadores inflamatórios como PCR, IL-6 e IL-10 .

Um estudo com o objetivo de investigar se há disfunção endotelial em pacientes com periodontite crônica após o tratamento com terapia periodontal consistiu de 28 pacientes com periodontite crônica e sem nenhuma doença vascular aterosclerótica, e 26 controles saudáveis. As respostas da artéria braquial as reações de hiperemia (dilatação endotélio-dependente) e nitroglicerina sublingual (dilatação endotélio-independente) foram medidas utilizando ultrassom vascular de alta resolução. Os resultados mostraram que a função endotelial é prejudicada em pacientes com periodontite crônica e que melhoram após terapia periodontal inicial. Entretanto, o autor sugere que os resultados deste estudo deveriam ser confirmados em estudos maiores com outros modelos para determinar a aterosclerose (MERCANOGLU et al., 2004).

Outro estudo positivo indica que o tratamento da periodontite severa reverte a disfunção endotelial. A função endotelial foi testada em 30 pacientes com periodontite severa que submeteram-se ao tratamento periodontal mecânico e farmacológico e 31 sujeitos controle. A medida da função endotelial foi pelo uso da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial. O estudo mostrou também significantes decréscimos nas concentrações de proteína-C reativa do grupo tratado comparado ao controle (SEISNOT et al., 2005). Similarmente, outro estudo recrutou 22 adultos saudáveis com periodontite moderada e severa e que submeteram-se a desinfecção bucal completa para avaliar se os resultados da terapia periodontal melhoravam a função endotelial e diminui os marcadores inflamatórios sistêmicos. Os resultados sugerem que o tratamento periodontal pode levar ao decréscimo nos

marcadores inflamatórios e melhora da função do endotélio vascular, contudo o autor admite que o próprio estudo possui limitações e mais estudos de intervenção são requeridos (ELTER et al., 2006).

D'aiuto et al. (2004) questionou se os níveis séricos altos de PCR devido a infecções crônicas da periodontite estariam relacionados com a aterosclerose e se seriam apenas uma coincidência. Para isto realizou um estudo com uma amostra de 94 indivíduos para avaliar se o controle (ou eliminação) da infecção periodontal pode ter um impacto sobre os marcadores sorológicos de inflamação sistêmica (PCR e IL-6). O autor observou que houve uma diminuição significativa nos níveis após 2 e 6 meses da terapia periodontal para IL-6 e somente após 6 meses para PCR.

Um ensaio clínico randomizado recrutou 40 pacientes com periodontite crônica severa generalizada. Amostras de sangue foram coletadas 1,2 e 6 meses antes e 2 e 6 meses após a terapia periodontal intensiva (teste) e após terapia padrão (controle). Foram analisados nas amostras de sangue: proteína-C reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6), quantidade de leucócitos, colesterol total (CT), colesterol HDL e LDL. Os resultados sugerem que o tratamento periodontal intensivo reduz os marcadores inflamatórios sistêmicos e melhora o perfil lipídico (reduz os níveis de LDL), com mudanças no risco cardiovascular quando comparados com o tratamento padrão (D'AIUTO et al., 2006).

Outro estudo de intervenção recrutou 36 pacientes randomicamente distribuídos em dois grupos que receberam raspagem e alisamento radicular, sendo que um grupo que recebeu antibiótico doxiciclina e o outro recebeu placebo. As amostras de sangue foram coletadas antes e após o tratamento. Ambos os grupos foram capazes de reduzir tanto os parâmetros clínicos de doença periodontal como também os marcadores inflamatórios associados (TÜTER et al., 2007).

Vêm sendo reportado estudos de intervenção avaliando o perfil lipídico dos pacientes após o tratamento periodontal intensivo registrando mudanças significativas (HIGASHI et al., 2008; KAMIL et al., 2011; TAYLOR et al., 2010). Por exemplo, um estudo para avaliação do perfil lipídico realizou o tratamento periodontal em 50 indivíduos que sofriam de hipercolesterolemia e avaliou as concentrações lipídicas após três meses do tratamento. O autor observou um significativo declínio dos perfis de colesterol total e LDL no grupo tratado e entre os dois grupos (AYKAC et al., 2007). Outro estudo descreveu mudanças nos triglicerídeos e HDL apenas dois meses após o tratamento periodontal em indivíduos com a síndrome metabólica (ACHARYA et al., 2010).

Um recente ensaio clínico randomizado foi realizado na China, com uma amostra de 134 indivíduos com diabetes e com seis meses de acompanhamento (CHEN et al., 2012). Os pacientes foram alocados para três subdivisões da amostra, incluiu os pacientes que foram submetidos a terapia periodontal não cirúrgica no início do estudo e reexaminados após três meses; que receberam tratamento após três meses do início do estudo, e que não receberam nenhuma intervenção. Todos os grupos mostram diminuição nos níveis séricos dos lipídios, entretanto não houve diferenças significativas entre os grupos.

Vários estudos de intervenção foram identificados descrevendo os efeitos da terapia periodontal na disfunção endotelial reportando um efeito positivo sobre a função endotelial (dilatação fluxo mediada) (BLUM et al., 2007; ELTER et al., 2006; HIGASHI et al., 2008; MERCANOGLU et al., 2004; SEISNOT et al., 2005; TONETTI et al., 2007). Um ensaio clínico controlado recrutou 120 pacientes com periodontite severa aos cuidados periodontais comunitários (59 pacientes) ou tratamento periodontal intensivo (61 pacientes). A função endotelial foi avaliada pela medida do diâmetro da artéria braquial durante o fluxo (dilatação fluxo-mediada), biomarcadores inflamatórios, marcadores de coagulação e ativação endotelial foram avaliados antes do tratamento e 1, 7, 30, 60 e 180 dias após o tratamento. Após o tratamento periodontal (24hs), a dilatação fluxo-mediada foi significativamente mais baixa no grupo tratado ( $p=0.002$ ), e os níveis de proteína-C reativa, interleucina-6, e os marcadores de ativação endotelial solúveis E-selectina e os fatores von Willebrand foram significativamente mais altos ( $p=0,05$ ). O tratamento periodontal intensivo resultou em aguda, inflamação sistêmica a curto-prazo e disfunção endotelial. Entretanto, 6 meses após a terapia, os benefícios na saúde oral foram associados com a melhora da função endotelial (TONETTI et al., 2007).

Um estudo piloto chamado PAVE (Periodontitis and Vascular Events) foi criado para testar se o tratamento das doenças periodontais reduzem o risco para as doenças cardiovasculares. Este estudo foi uma experiência multicêntrica, randomizada, que comparou terapia periodontal aos cuidados comunitários dentais. O estudo planejou envolver 600 participantes e foi conduzido em cinco centros entre Janeiro de 2003 a Junho de 2005 na Universidade de Buffalo, na Universidade Carolina do Norte, na Universidade de Boston, no Centro Permanente Kaiser para Pesquisa em Saúde/Universidade de Ciências e Saúde de Oregon, e a Universidade de Maryland. Tanto no início como durante foram feitas visitas incluindo exames periodontais, sanguíneos, placa subgengival e coleta de espécimes do fluido crevicular, como também a entrevista contendo a história médica e dental. Os resultados

mostraram que os eventos cardiovasculares ocorrem com similar frequência na comunidade controle e na comunidade tratada (BECK et al., 2008).

Sabendo do importante papel dos monócitos no sistema imunológico do hospedeiro, bem como no processo inflamatório do hospedeiro (ROSS, 1999), um estudo investigou os efeitos da terapia periodontal na expressão genética de monócitos sanguíneos periféricos em pacientes com formas severas de periodontite. Participaram 15 pacientes com amostras de sangue: uma semana antes do tratamento, no início do tratamento, seis semanas e dez semanas após a terapia periodontal. No início do tratamento e 10 semanas depois, o estado periodontal foi registrado e amostras de placa subgingival foram obtidas. Os resultados mostraram uma significativa melhora no estado periodontal e redução dos patógenos periodontais. Aproximadamente um terço dos pacientes mostraram mudanças relevantes na expressão do gene (imunidade inata), na apoptose e sinalização celular. Os dados deste estudo sugerem que a terapia periodontal pode alterar a expressão do monócito de uma forma similar aos efeitos antiinflamatórios sistêmicos (PAPAPANOU, 2007).

O único estudo de intervenção envolvendo IMT e tratamento periodontal foi realizado na Itália, onde envolveu 35 indivíduos saudáveis afetados por periodontite leve e moderada, sem grupo controle. Todos os indivíduos fizeram ultrassonografia das artérias carótidas antes e depois da terapia periodontal. Houve uma redução significativa intra-grupo do IMT aos 6 e 12 meses após a intervenção periodontal ( $P=0,001$ ) (PICONI et al., 2009). Há pouca evidência dos efeitos da terapia periodontal na taxa de progressão do IMT.

Bokhari et al. (2009) confirmou um efeito positivo do tratamento periodontal não-cirúrgico na redução dos níveis de fibrinogênio tanto em pacientes com doenças cardiovasculares como em pacientes saudáveis, sendo que os pacientes com doenças cardiovasculares reduziram os níveis em maior quantidade, comparado com os indivíduos saudáveis. Outros estudos de intervenção importantes também mostraram redução nos níveis de fibrinogênio após a terapia periodontal (CORREA et al., 2010; VIDAL et al., 2009). Mas existe um número maior de pesquisas que não conseguiram reproduzir estes mesmos resultados (BUHLIN et al., 2009; LALLA et al., 2007; MATTILA et al., 2002; MARCACCINI et al., 2009; MONTEBUGNOLI et al., 2005; TAYLOR et al., 2010). E alguns trabalhos demonstraram um aumento curto prazo dos níveis de fibrinogênio após a terapia periodontal (D'AIUTO; PARKAR; TONETTI, 2007; GRAZIANI et al., 2010).

Iwamoto et al. (2001, 2003) demonstrou uma redução significativa dos níveis de TNF- $\alpha$  no soro em pacientes que receberam a terapia periodontal associada a minociclina comparando com o controle. Outros estudos demonstram os mesmos resultados com relação

aos efeitos da terapia periodontal (CORREA et al., 2010; DUARTE et al., 2010; SUN et al., 2011). Entretanto, há também muitos ensaios clínicos que não demonstram efeitos significativos da terapia periodontal nos níveis de TNF- $\alpha$  (BUHLIN et al., 2009; CHEN, 2012; FENTOGLU et al., 2011; IDE et al., 2003; KALLIO et al., 2008; LALLA et al., 2007).

#### 1.4.4 Revisões, revisões sistemáticas e meta-análises

As evidências atuais disponíveis foram analisadas em uma grande meta-análise e os resultados parecem suportar a hipótese real de que as infecções crônicas, incluindo a periodontite podem ter um papel causal na aterosclerose (DANESH et al., 1998). Além disso, revisões sistemáticas confirmam a associação das doenças periodontais e doenças cardiovasculares (JANKET et al., 2003; KHADER; ALBASHAIREH; ALOMARI, 2004; LOCKHART et al., 2012; SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003). Entretanto, são poucas as revisões sistemáticas até a presente data, uma mais recente avaliou tudo que existe na literatura (Cinhal, Cochrane, Embase e Medline) a partir de julho de 2012, procurando artigos que evidenciam o impacto do tratamento periodontal nos biomarcadores e desfechos das doenças cardiovasculares. O autor avaliou diversos artigos que envolvem a terapia periodontal e os diversos fatores de risco para as doenças cardiovasculares (lipídios, pressão sanguínea, função endotelial, arteriosclerose subclínica-IMT, morbidade/mortalidade cardiovascular, marcadores inflamatórios). Avaliando diversos ensaios clínicos randomizados: 1) a respeito dos níveis séricos de lipídios, o autor concluiu que não há provas que suporte os efeitos positivos da terapia periodontal não-cirúrgica e perfil lipídico; 2) a respeito da função endotelial (dilatação fluxo-mediada), o autor conclui que existe um consistente efeito da terapia periodontal melhorando a função endotelial. O autor embora tenha feito uma extensa revisão sistemática, conclui que há uma limitada evidência desta correlação e que é necessário mais artigos multicêntricos que avaliem os efeitos da terapia periodontal na incidência de futuros eventos cardiovasculares (D'AIUTO; ORLANDI; GUNSOLLEY, 2013).

Uma importante meta-análise reuniu 5 estudos coortes prospectivos (86092 pacientes) indicando que os indivíduos que apresentavam doença periodontal tinham 1,14 vezes maior risco de desenvolver a doença cardiovascular que o controle. Também, observou-se que existe uma relação ao número de dentes e doenças cardiovasculares, onde existe 1,24 vezes maior

risco de desenvolver doenças cardiovasculares em pacientes que possuem menos de 10 dentes (BAHECAR et al., 2007).

Uma revisão sistemática de literatura foi conduzida para verificar a associação entre doença periodontal inflamatória crônica e aterosclerose. A revisão reuniu 31 estudos, destes 8 caso-controle e 18 estudos transversais. A ausência de um padrão definido para a medida de doença periodontal complicou a interpretação dos resultados, como também os vários fatores de risco confundentes para ambas as doenças. Entretanto, o autor conclui que a doença periodontal pode ser moderadamente associada a aterosclerose e, que mais estudos epidemiológicos longitudinais e estudos de intervenção são necessários para validar esta associação e determinar causalidade (SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003).

A associação dos efeitos da doença periodontal e as doenças cardiovasculares tem sido revisada e meta-analisada por muitos pesquisadores. Entretanto algumas revisões definem doença periodontal por exame clínico e radiográfico somente, e não incluem marcadores biológicos da exposição sistêmica bacteriana da doença periodontal (BAHECAR et al., 2007; JANKET et al., 2003; KHADER; ALBASHAIREH; ALOMARI, 2004; SCANNAPIECO; BUSH; PAJU, 2003). Vários estudos recentes tem associado os marcadores biológicos da doença periodontal com os resultados cardiovasculares (BECK et al., 2005; DESVARIEUX et al., 2005; PUSINEN et al., 2003, 2004). Desta forma, uma importante meta-análise reuniu 10 publicações para analisar e concluiu que as doenças periodontais com elevados marcadores biológicos de exposição bacterianas estão associadas aos eventos cardiovasculares e aterogênese precoce. Esta evidência está mais fortemente associada em homens dentados (MUSTAPHA et al., 2007).

#### 1.4.5 Consensos da Associação Americana do Coração e Associação Americana de Periodontia

Um consenso sobre periodontite e doenças cardiovasculares esclarece os profissionais clínicos, especialmente os cardiologistas e periodontistas uma melhor compreensão da associação em pauta, e baseada na literatura científica atual, a melhor abordagem aos pacientes, para a redução dos eventos cardiovasculares (FRIEDEWALD et al., 2009).

Após 30 anos de investigação, a Associação Americana do Coração tem um posicionamento frente ao que vem sendo publicado sobre a associação entre doença periodontal e doenças cardiovasculares concluindo que ainda não está claro se esta ligação é causal necessitando de mais estudos intervencionistas, controlados e bem desenhados. Tais investigações deverão refletir a eficácia longitudinal das abordagens para a cura das doenças periodontais, dada a possibilidade de sua recorrência. (LOCKHART et al., 2012).

O último consenso do Grupo Europeu de Pesquisas em Periodontia e da Academia Americana de Periodontia (TONETTI; VAN DYKE, 2013) orienta os odontólogos e pesquisadores. As principais recomendações para os odontólogos são que os profissionais devem estar cientes do fortalecimento da evidência de que a periodontite é um fator de risco para o desenvolvimento das DCVA e devem aconselhar os seus pacientes do risco, também devem aconselhar os pacientes que tem além da periodontite, outros fatores de risco para as DCVA como hipertensão, sobrepeso/obesidade, tabagismo, etc, que não tenham consultado um médico no último ano, devem ser encaminhados para um. Também, foi recomendado que os dentistas práticos devem aconselhar os seus pacientes sobre os fatores de risco comuns da periodontite e das DCVA, sobre a modificação de estilos nocivos de vida, como cessação do tabagismo, controle da dieta e prática de exercícios físico. O trabalho conjunto com especialistas como médico cardiologista, médico pneumologista, nutricionistas, profissionais da educação física (personal trainers), psicólogos e psiquiatras, etc pode ser de grande valor na aquisição dos resultados terapêuticos para ambas doenças debatidas. Além disso tudo, o consenso recomenda seguir as diretrizes da Associação Americana do Coração para os procedimentos eletivos.

Existem ainda lacunas significativas nessa área do conhecimento, por isso as recomendações do Consenso (TONETTI; VAN DYKE, 2013) para os pesquisadores são executar projetos de pesquisas básicos para melhorar a compreensão de bacteremia associada às doenças periodontais, definir melhor o papel da microbiota bucal dentro da placa



aterosclerótica, esclarecer o papel dos mediadores produzidos no periodonto em contribuir para a resposta sistêmica do hospedeiro, identificar os fatores genéticos e epigenéticos que influenciam a suscetibilidade à inflamação sistêmica, os efeitos do tratamento periodontal em indivíduos de alto risco a curto prazo e a inflamação crônica e disfunção endotelial. Além disso, o Consenso recomenda que mais estudos epidemiológicos dentro do contexto em questão abordando os aspectos de prevenção são necessários; que os estudos epidemiológicos deveriam abordar a doença periodontal e os fatores de risco para as DCVA em diferentes tempos ao longo dos estudos longitudinais; a necessidade de mais informação da relação temporal de exposição as doenças periodontais e as medidas resultantes da DCVA; e a necessidade de estudos caso-controle incluindo biomarcadores em indivíduos com menos de 65 anos de idade. O Consenso recomenda a necessidade de mais estudos de intervenção para definir os parâmetros de ensaios clínicos randomizados futuros sobre os efeitos do tratamento da periodontite na DCVA, sendo que os estudos de intervenção bem desenhados deveriam estar justificados pela concordância com estudos de plausibilidade biológica, dados de estudos epidemiológicos e de estudos preliminares de intervenção, deveriam ser eficazes na forma de tratar e prevenir periodontite, além disso são justificados pela alta prevalência de periodontite na população.

## **2 PROPOSIÇÃO**

Avaliar o efeito do tratamento periodontal intensivo na função endotelial, perfil lipídico e marcadores inflamatórios em pacientes com doença periodontal crônica severa

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Hipóteses da pesquisa**

Hipótese 0: Não houve diferenças estatisticamente significantes dos marcadores inflamatórios, disfunção endotelial e perfil lipídico após o tratamento periodontal no grupo tratado comparando com início do tratamento e com o grupo controle.

Hipótese 1: Houve diferenças estatisticamente significantes dos marcadores inflamatórios, disfunção endotelial e perfil lipídico após o tratamento periodontal no grupo tratado comparando com o início do tratamento e com o grupo controle.

#### **3.2 Ética da pesquisa**

Este estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do hospital Pedro Ernesto na cidade do Rio de Janeiro. Todos os participantes foram informados dos objetivos e métodos do estudo e leram e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido para participar e autorizar a publicação dos dados coletados (Anexo A e B).

#### **3.3 Desenho do estudo**

O estudo foi um ensaio clínico randomizado, controlado, intervenção piloto único cego com cem dias de acompanhamento após o término do tratamento. As diretrizes do estatuto padrão para os ensaios clínicos (CONSORT) foram utilizadas.

### 3.4 População experimental

Os pacientes foram recrutados a partir de uma palestra promovida pelo Syns em São Martinho/RS (área rural) e por meio de divulgação (Jornal Diário de Santa Maria) através de duas publicações. Os pacientes que suspeitavam que eram potenciais voluntários se candidataram para realizar uma triagem. Os critérios de inclusão foram a presença de no mínimo 13 dentes em boca e diagnóstico de periodontite severa localizada ou generalizada, sem qualquer outra infecção ou doença sistêmica. Os pacientes passaram por uma triagem onde envolvia o exame clínico periodontal de profundidade de sondagem de bolsas periodontais (PS) onde deveriam ter no mínimo 4 sítios maiores ou iguais a 6mm e no mínimo 12 sítios maiores ou iguais a 4mm. Os critérios de exclusão (1) doenças sistêmicas conhecidas não controladas (cardiovascular, respiratório, renal, neoplasia maligna, diabetes), (2) presença de outras infecções (3) tratamento antibiótico nos últimos 3 meses, (4) tratamento com medicação que afete os níveis séricos de marcadores inflamatórios (por exemplo, drogas anti-inflamatórias) e (5) mulheres grávidas ou amamentando.

Todos os pacientes selecionados na triagem leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A). O estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital Pedro Ernesto da cidade do Rio de Janeiro (Anexo B).

### 3.5 Esboço do estudo

A consulta inicial foi conduzida por um examinador calibrado (L.C.) que coletou a história médica completa e os parâmetros clínicos. Os dados foram anotados em uma ficha clínica de cada paciente (Apêndice A e B). Foram realizadas coletas de sangue imediatamente após a consulta inicial. Um outro examinador (M.M.M.D.) fez a análise das amostras de sangue e um terceiro examinador (P.F.B.B.) realizou ultrassonografia das artérias carótidas.

As seguintes consultas envolveram a fase do tratamento periodontal que foi realizada por um periodontista (L.C.). Os pacientes foram reexaminados 40 e 100 dias após a conclusão da terapia periodontal quando os mesmos parâmetros clínicos periodontais e sorológicos foram novamente coletados. Os parâmetros cardiológicos, obtidos na ultrassonografia das artérias carótidas, foram reexaminados após 100 dias da conclusão da terapia periodontal. O

total da análise longitudinal foi feita durante um tempo médio de 6 meses a contar do início das coletas (baseline), com o total de três coletas para todos os parâmetros, com exceção do IMT das artérias carótidas que foi com duas coletas.

### **3.6 Calibragem do examinador**

Um total de 5 indivíduos não incluídos no estudo foram recrutados e utilizados para a calibragem do examinador periodontista. Esses indivíduos tinham doença periodontal e o examinador coletou os dados em duas ocasiões. Após a conclusão de todas as medições intra-examinador foi julgado reprodutível tolerando uma diferença de 2mm para mais ou para menos em 98% das medições

### **3.7 Parâmetros periodontais**

Nas três visitas do estudo (baseline, 40 e 100 dias), a profundidade de sondagem (PS), nível de inserção (NI), e sangramento à sondagem (SS) foram registrados seis sítios por dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual e disto-lingual) utilizando sonda periodontal milimetrada Universidade Carolina do Norte (Hu-Friedy®; Chicago, USA). Foi analisado a presença de lesões de furca e mobilidade dentária conforme número de dentes e grau.

### **3.8 Tratamento periodontal**

Os pacientes foram randomicamente recrutados para receber o tratamento periodontal intensivo imediato (grupo tratado) e receber o tratamento periodontal intensivo após conclusão de todas as coletas dos dados da pesquisa (grupo controle). Os pacientes foram tratados para a periodontite por meio da terapia periodontal não-cirúrgica por um periodontista (L.C.). A instrução de higiene oral e a raspagem e alisamento radicular sob

anestesia local foram realizadas com aparelho ultrassom piezoelétrico (Cavitron, DentsplyMaillefer, Ballaigues, Suíça), instrumentação manual com curetas gracey novas e afiadas (Hufriedy, Chicago, IL) e complementado com bochechos duas vezes ao dia de antisséptico bucal (gluconato de clorexidina 0,12%) durante todo o tratamento. O tratamento periodontal correspondeu a técnica de raspagem e alisamento radicular seguidos pelas recomendações da Academia Americana de Periodontia. O periodontista concluiu a terapia entre 4 a 6 sessões concluindo a fase de tratamento em 1 a 2 meses após a consulta inicial. Não foi realizado nenhum retratamento periodontal. Quando necessário foi realizado a extração de dentes indicados antes da conclusão do tratamento periodontal. Para o grupo controle foi feita a instrução de higiene oral no início do tratamento e após todos os exames requeridos para a pesquisa foi realizada a mesma técnica de tratamento periodontal do grupo teste, por questões éticas.

### 3.9 Análise e coleta de sangue

As amostras de sangue foram coletadas a partir de uma punção venosa simples, venopuntura limpa da fossa antecubital no início do tratamento, 40 e 100 dias após a conclusão do tratamento periodontal para todos os grupos. As amostras de sangue foram coletadas após um jejum de 12 horas durante a noite. Após a coleta foram colocados em Vacutainers® (BD Diagnostics, Plymouth, Reino Unido), tubos com EDTA mais fluoreto de sódio acrescido de oxalato de potássio ou sem anticoagulante, respectivamente.

As espécimes foram rotineiramente centrifugadas dentro de 1h após a coleta, durante 15 min a 2500rpm, e as alíquotas de amostras séricas foram armazenadas a -20°C durante o máximo 8 semanas.

Os níveis séricos de colesterol total e triglicerídios foram medidos usando concentrações padrão enzimático utilizando métodos Ortho-Clinical Diagnostics® reagentes de um analisador totalmente automatizado (Vitros 950® química seca sistema, Johnson & Johnson, Rochester, NY, EUA).

O colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) foi medido no plasma sobrenadante após precipitação das lipoproteínas que contém apolipoproteína B com sulfato de dextran e cloreto de magnésio, como descrito anteriormente (BACHORIK, 1986). O colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) foi estimado pela equação de Friedwald (FRIEDEWALD,

1972). O PCR-us foi medido por nefelometria (Dade Behring, Newark, DE, USA). A oxLDL foi determinada pelo ELISA de acordo com as instruções do fabricante (Mercodia AB, Uppsala, Suécia), como descrito por Holvoet (1998), e os níveis de anti-oxLDL foram determinados usando ELISA como descrito por Wu e Lefvert (1995).

A quantificação das citocinas foi avaliada por ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) utilizando kits comerciais para humanos com 96 testes para cada marcador (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN $\gamma$ ), da eBioscience (San Diego, USA) de acordo com as instruções do fabricante (importadora Ambriex). As análises foram avaliadas em duplicata para todas as amostras para minimizar a variabilidade.

### 3.10 Ultrassonografia das artérias carótidas

As ultrassonografias das artérias carótidas foram registradas por um examinador médico cardiologista (P.F.B.B.), especialista em ecocardiografia, com o aparelho ultrassom de alta resolução modo-B (Sistema V, GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norway e transdutores de 10MHz). O examinador era cego a respeito das condições periodontais ou a qual grupo pertencia os indivíduos.

O paciente foi colocado em posição supina, e o transdutor foi posicionado na região das artérias carótidas. Em um primeiro momento, avaliou-se bilateralmente a presença de placas ateroscleróticas com a imagem longitudinal da artéria carótida comum, externa e interna. Após, definiu-se que o complexo carotídeo direito seria o alvo de nosso estudo para a obtenção do índice médio-intimal.

Foram utilizados transdutores lineares com angulações delicadas que mostraram claramente as fronteiras íntima-sangue e média-adventícia ambas perto e longe das paredes das artérias, sempre na parede posterior. O transdutor foi percorrido até as proximidades da mandíbula, externamente, até a área da luz aumentando com o surgimento da bifurcação carotídea, internamente. No caso de presença de placa (valores de espessamento de parede maiores que 1,4mm), os dados foram calculados em porcentagem de estenose do vaso em maiores ou menores que 50%. O protocolo IMT (índice médio-intimal) de carótidas consistiu em um scanner de varredura transversal de múltiplos pontos compreendidos em 1cm até 2cm da bifurcação (bulbo carotídeo) da parede posterior da artéria carótida comum. A imagem onde foi localizada a região a ser medida foi congelada e amplificada na tela do computador,

o examinador anotou o intervalo de dois pontos da parede posterior da artéria carótida comum (1 e 2cm da bifurcação carotídea). O próprio aparelho mediu todos os pontos transversais entre média-adventícia e íntima-sangue no intervalo destas duas medidas da parede posterior da artéria, obtendo de uma média de 242,25 pontos transversais, a média total do índice médio-intimal por indivíduo. A região onde foi obtido este intervalo foi reproduzida e medida novamente três meses após a conclusão da terapia periodontal para todos os grupos.

Tomou-se por base a referência dos valores que se encontram abaixo de 0,9mm, como normais; de 0,9 a 1,4mm, espessado ou aterosclerose subclínica e acima de 1,4mm, estenose ou presença de placa aterosclerótica (BALDASSARRE et al., 2000; LORENZ et al., 2006; TOUBOL et al., 2007).



## 4 TRATAMENTO DOS DADOS

### 4.1 Cálculo amostral

Durante a fase do Projeto do Doutorado (2010) para o ingresso a vaga na Universidade Estadual do Rio de Janeiro, foi executado um estudo de intervenção piloto com 5 indivíduos (3 tratados e 2 controles) com a amostra experimental eleita onde foram obtidos resultados da mesma intervenção proposta para que se pudesse realizar uma análise ideal total do tamanho amostral. O maior desvio padrão do delta entre os dois grupos foi selecionado para ser inserido no cálculo. O parâmetro com maior variabilidade foi o fibrinogênio (mg/mL). Adotando-se um alfa de 0,05 e uma confiabilidade de 80%, o tamanho amostral mínimo para detectar uma diferença significativa de 6,57 mg/mL entre tratados e controles (equivalente a um desvio padrão), foi de 16 indivíduos por grupo.

### 4.2 Análise estatística

Primeiramente, foi feita uma análise descritiva de todos os dados, através da qual foram obtidas tabelas de frequência e a estatística descritiva dos dados (n, média e desvio padrão). As medidas do índice médio-intimal (IMT), perfil lipídico e nas concentrações sorológicas de PCR-us, fibrinogênio, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, INF $\gamma$  e TNF- $\alpha$  após a terapia periodontal foram utilizados como sendo as variáveis de desfecho primário. A análise dos dados foi realizada através da utilização do programa SPSS para Windows versão 18.0 (Chicago, IL, USA).

### 4.3 Variáveis de confusão

Gênero, tabagismo e idade foram consideradas como potenciais variáveis de confundimento. Como nenhuma dessas variáveis foi associada tanto com algum desfecho como com o fator (variável tratado *versus* controle) com um valor  $P$  menor do que 0.2, elas não foram incluídas como covariáveis nos modelos finais (MALDONADO; GREENLAND, 1993). Essa definição estatística foi utilizada com o intuito de evitar modelos estatísticos saturados e buscar modelos mais parcimoniosos.

### 4.4 Testes estatísticos

Na análise descritiva, teste  $t$  e o correspondente não paramétrico Mann-Whitney foram utilizados quando apropriado. Qui-quadrado de Pearson só foi utilizado quando as pressuposições mais recentes foram satisfeitas. Caso contrário, o teste exato de Fisher foi empregado.

Modelos de equações de estimativas generalizadas (*generalized estimating equation* – GEE) foram usados para avaliar o efeito da terapia periodontal nos desfechos investigados. O tipo de modelo e a função de ligação foram definidos a partir da distribuição da variável dependente. O menor valor de QIQ (Quasi-likelihood under the independence model criteria) foi utilizado na escolha da melhor matriz de correlação de trabalho. Modelos com resultados significativos sofreram uma análise *post hoc* (Bonferroni) com o intuito de comparar tempo por tempo em cada grupo.

O nível estabelecido de significância foi 5% para todos os testes aplicados.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 População experimental

Foi realizada uma palestra sobre cuidados com saúde bucal na região de São Martinho pelo convênio Syns no dia 23/08/11 onde foi feita a primeira divulgação da pesquisa e convite para que a população local que tivesse interesse pudesse participar. Após foi gerado um folder explicativo e dois anúncios nos dias 24/04/2012 e 01/05/2012 no jornal da cidade de Santa Maria e região onde foi feito um convite para que voluntários pudessem participar da pesquisa (Anexo C). Em um segundo momento, foi realizado uma triagem onde foram selecionados trinta e dois participantes que se encaixavam dentro dos critérios de inclusão da pesquisa.

Os trinta e dois sujeitos que concordaram com o plano de tratamento foram acompanhados desde o dia 30/05/2012 onde se deu o início da pesquisa com o formulário de entrevista e exame clínico até o dia 23/01/2013 onde se concluiu a coleta dos últimos dados após os 100 dias da conclusão do tratamento. Portanto o trabalho foi longitudinal envolvendo três tempos (baseline, 40 dias e 100 dias) ao longo de um tempo médio de 6 meses.

Todos os sujeitos tinham  $51,8 \pm 7$  anos de idade, 50% eram mulheres, 90,6% eram brancos, 34,4% são ex-fumantes, 75,1% tinham história familiar de doenças cardiovasculares e 43,8% tinham história familiar de doenças periodontais (Tabela 1, 2 e 3).

A maioria dos participantes tem como nível educacional o primeiro grau incompleto (43,7%) e completo (6,3%) e o segundo grau incompleto (3,1%) e completo (40,6%). Apenas 6,3% tinham curso superior. A maioria dos participantes eram agricultores (21,9%), aposentados (12,5%), desempregados ou “do lar” (12,5%), domésticas (6,25%) e os demais tinham atividades profissionais variadas (Tabela 2).

Com relação ao tabagismo, 18,7% fumavam de 3 a 20 cigarros/dia por mais de 20 anos e 34,4% já haviam fumado há mais de cinco anos atrás por um tempo mínimo de 2 anos e no máximo 43 anos. Não houve modificações nos hábitos de fumar durante os seis meses de estudo. Nenhum dos participantes fez uso de drogas ilícitas, entretanto 25% tomavam bebidas alcoólicas com a frequência de no mínimo uma vez por semana (Tabela 1).

Todos os entrevistados relataram já terem ido ao dentista, a maioria até um ano (68,9%) e dois anos (15,6%) atrás. Todos os pacientes relataram nunca terem realizado a terapia periodontal com raspagem supra e subgingival para tratar a periodontite. No histórico

odontológico dos participantes incluiu os tratamentos de restauração, extração, endodontia, prótese e profilaxia dentária. Segundo a opinião dos entrevistados a sua higiene oral é excelente (3,1%), muito boa (18,8%), boa (46,9%), ruim ou pouco boa (28,1%) e péssima (3,1%), sendo 68,8% dos entrevistados relataram ter mau hálito. Todos utilizavam a escova dentária comum e pasta de dente como principal método de higiene e a maioria (71,9%) escova três vezes por dia. Apenas 59,4% utilizavam o fio dental como auxiliar e 46,9% o bochecho com enxaguatórios (Tabela 2).

Ao todo 78,1% já relataram terem ido ao cardiologista, sendo 68% há três anos ou menos atrás e 32% há mais que três anos atrás. Apenas 15,6% faz tratamento contínuo com o cardiologista, sendo que nenhum destes sofreu alguma modificação referente ao tipo de tratamento recomendado ao longo deste estudo. O histórico médico pregresso de alguns entrevistados incluiu problemas com o ácido úrico, artrose, aterosclerose, níveis altos de colesterol, ansiedade, depressão, problemas circulatórios, hipertensão, níveis altos de glicose, reumatismo, problemas com a tireoide e/ou arritmia cardíaca. Todas as medicações na qual os pacientes estavam tomando não sofreram alteração no protocolo ou dosagens durante todo o período do estudo (Tabela 3).

Nenhum paciente relatou apresentar diabetes, e 12,5% relatou ter hipertensão. Nenhum participante relatou ter sofrido anteriormente o infarto do miocárdio, entretanto um dos participantes relatou já ter sofrido o acidente vascular cerebral (Tabela 3).

Após a avaliação inicial, os pacientes foram submetidos a randomização para divisão dos grupo tratado e controle, sendo a proposta inicial de 16 para cada grupo. Após a randomização, os pacientes foram sendo chamados para iniciar o tratamento, conforme a sua alocação e ordem. Um paciente do grupo controle foi remanejado para o grupo tratado e outros quatro pacientes foram trocados de grupos por questões éticas, totalizando 17 pacientes no grupo tratado e 15 no grupo controle. Esta mudança na composição dos grupos somando ou não ao acaso pode explicar as diferenças significativas nas médias iniciais dos parâmetros clínicos periodontais entre o grupo tratado e grupo controle no início do tratamento, como demonstrado na figura 2.

## 5.2 Características clínicas

### 5.2.1 Exame odontológico periodontal inicial

Os parâmetros clínicos periodontais registrados enfatizam a gravidade e extensão da infecção periodontal (Tabela 4). No início do estudo, os pacientes tiveram registrados a média do número de bolsas com profundidade de sondagem (PS)  $\geq 4\text{mm}$  de 48,5, PS  $\geq 6\text{mm}$  de 15,1 e sítios com sangramento à sondagem de 28,8. A percentagem média inicial dos sítios com doença periodontal foi de 36,3%. Dos trinta e dois participantes, apenas dez tinham lesões de furca com grau 1 (n=9, 13 dentes), grau 2 (n=4, 4 dentes) e grau 3 (n=3, 7 dentes); e quinze pacientes tinham mobilidade dentária com grau 1 (n=8, 13 dentes), grau 2 (n=12, 17 dentes) e grau 3 (n=7, 11 dentes) no início da pesquisa. O número médio de bolsas periodontais profundas (PS $\geq 4\text{mm}$ ) foi 5,1 com o número médio de nível de inserção de 4,2mm e perda de inserção de 0,72mm no início do tratamento. A população possuía o diagnóstico inicial de periodontite severa localizada (93,8%) e generalizada (6,3%) de acordo com Armitage (1999).

### 5.3 Efeito do tratamento nos resultados periodontais

Os indivíduos que foram tratados mostraram uma significativa redução na média do número de bolsas periodontais de 68,64 no início do tratamento para 25,52 em 40 dias e 22,76 em 100 dias de acompanhamento comparando com o grupo controle ao longo do tempo ( $P_3 < 0,0001$ ) (Figura 2D). A média da percentagem dos sítios doentes reduziu significativamente de 48,58% para 18,72% em 40 dias e 17,31% em 100 dias após a conclusão do tratamento do grupo teste, sendo que o início do tratamento diferiu significativamente da segunda e terceira coleta no grupo tratado, mas o mesmo não aconteceu no grupo controle, onde só houve diferença significativa entre o início e a segunda coleta aos 40 dias, como demonstrado na figura 2C ( $P_3 < 0,0001$ ). Os indivíduos que foram tratados mostraram uma significativa redução no número de bolsas  $\geq 6\text{mm}$  (Figura 2E), nos sítios com sangramento à sondagem (Figura 2F), porcentagem de dentes com mobilidade (Figura 2I), na

média das bolsas  $\geq 4\text{mm}$  (Figura 2G) e nível de inserção de cada indivíduo (Figura 2H) comparando com o grupo controle ao longo do tempo (Tabela 4). Houve um aumento significativo da perda óssea alveolar em toda amostra após 40 dias ( $P_1 < 0,001$ ) e 100 dias ( $P_1 = 0,009$ ) (Tabela 4), entretanto não houve alterações significativas comparando com o grupo controle ao longo do tempo ( $P_3 = 0,284$ ).

#### 5.4 Efeito do tratamento nos parâmetros obtidos da ultrassonografia das artérias carótidas

As características iniciais do IMT médio dos pacientes do grupo tratado (0,82mm) e do grupo controle (0,91mm) foram similares (Figura 3A). Após 100 dias da terapia periodontal intensiva do grupo tratado, o IMT médio reduziu significativamente para 0,68mm ao longo do tempo, comparando com o grupo controle que aumentou para 1mm ( $P_3 = 0,006$ ) (Figura 3A). O IMT máximo mostrou redução significativa da mesma forma (Figura 3B), no entanto o IMT mínimo não mostrou alterações significativas (Tabela 5). A média do índice máximo intimal da artéria carótida no grupo tratado no início foi 1,12mm, e após 100 dias do tratamento foi de 0,92mm, enquanto a média para a mesma variável no grupo controle foi 1,21mm no baseline e 1,40mm após 100 dias do tratamento, sendo significativo o efeito do tratamento na variável tempo versus tratado-controle ( $P_3 = 0,018$ ; Figura 3B). Entretanto após a correção de *Bonferroni* não houve diferenças significativas. A média do índice médio intimal mínimo da artéria carótida reduziu de 0,54mm para 0,43mm para o grupo tratado e de 0,45mm para 0,38mm para o grupo controle, entretanto não mostrou nenhuma das alterações estatisticamente significativas (Tabela 5).

Com relação à presença de placa aterosclerótica na região das artérias carótidas, seis pacientes tinham placas menores que 50% no início do estudo, em toda a amostra. No seguinte exame de cem dias após o tratamento periodontal aumentou dois pacientes do grupo controle com placas ateroscleróticas discretas sendo menores que 50%. O grupo tratado permaneceu similar quanto a presença ou ausência de placas.

Foi determinada a condição ou grupo conforme as medidas do IMT médio de acordo com o consenso de Mannheim (TOUBOL, 2007). Os resultados medidos do IMT, no início do estudo 65,6% foram considerados com diagnóstico normal, 34,4% apresentavam espessamento ou estenose nas artérias carótidas. Após os 100 dias do tratamento, tanto no

grupo controle como no grupo tratado tiveram alterações significativas no IMT médio e máximo, porém sem diferenças significativas no diagnóstico e condição final (Tabela 5). O grupo controle teve dois novos indivíduos que passaram de normal para condições de espessamento médio-intimal compatíveis com aterosclerose subclínica ( $0,9\text{mm} < \text{IMT-médio} < 1,4\text{mm}$ ) e o grupo tratado teve um indivíduo que alterou o diagnóstico de condições de espessamento médio-intimal compatíveis com aterosclerose subclínica para normalidade ( $\text{IMT-médio} < 0,9\text{mm}$ ). Como foram poucos os indivíduos que alteraram o diagnóstico final, não houve diferença significativas ( $P > 0,05$ ) como demonstrado na tabela 5.

## 5.5 Efeito do tratamento nos parâmetros sorológicos

### 5.5.1 Perfil lipídico

A média do colesterol total foi 204,52 mg/dL para o grupo tratado e 232,73 mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 196,47 mg/dL para o grupo tratado e 221,73 mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; e 197,58 mg/dL para o grupo tratado e 235mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados não mostraram diferenças significativas na variável de interação tempo versus tratado-controle ( $P_3=0,438$ ), entretanto houve diferenças significativas na avaliação após 40 dias do tratamento intensivo comparando com o início do tratamento e com o grupo controle ( $P = 0,045$ ) (Tabela 6).

A média do colesterol HDL foi 53,11 mg/dL para o grupo tratado e 51,60 mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 55,47 mg/dL para o grupo tratado e 51,13 mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 51,64 mg/dL para o grupo tratado e 50,86mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Não houve diferenças significativas ( $P_1, P_2$  e  $P_3 > 0,05$ ) (Tabela 6).

A média do colesterol LDL foi 121 mg/dL para o grupo tratado e 143,13 mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 109,58 mg/dL para o grupo tratado e 128,46 mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 118 mg/dL para o grupo tratado e 148mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados não mostraram diferenças significativas na variável de interação

tempo versus tratado-controle ( $P_3=0,425$ ), entretanto houve diferenças significativas na avaliação após 40 dias do tratamento intensivo comparando com o início do tratamento e com o grupo controle ( $P = 0,003$ ) e a avaliação após 100 dias do tratamento periodontal diferiu significativamente da avaliação após 40 dias ( $P = 0,004$ ) (Tabela 6).

A média dos triglicerídeos foi 152,05 mg/dL para o grupo tratado e 189,80 mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 157,47 mg/dL para o grupo tratado e 210,40 mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 140,05 mg/dL para o grupo tratado e 178,13 mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Não houve diferenças significativas ( $P_1, P_2$  e  $P_3 > 0,05$ ) (Tabela 6).

A média do LDL oxidado foi 0,60mg/dL para o grupo tratado e 0,93mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 0,54mg/dL para o grupo tratado e 0,93mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento e 0,44mg/dL para o grupo tratado e 0,87mg/dL, após os 100 dias do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 < 0,05$ ) (Tabela 6, Figura 4A).

A média dos anticorpos contra o LDL oxidado foi 10,12mg/dL para o grupo tratado e 13,4mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 9,42mg/dL para o grupo tratado e 13,4mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento e 8mg/dL para o grupo tratado e 12,96mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 < 0,05$ ) (Tabela 6, Figura 4B).

### 5.5.2 Marcadores inflamatórios

A média do PCR-u foi 5,61 mg/dL para o grupo tratado e 3,99 mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 3,99 mg/dL para o grupo tratado e 3,45 mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 4,14 mg/dL para o grupo tratado e 5,73 mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Não houve diferenças significativas ( $P_1, P_2$  e  $P_3 > 0,05$ ) (Tabela 7).

A média do fibrinogênio foi 287,05 mg/dL para o grupo tratado e 301,60 mg/dL para o grupo controle, no início do tratamento; 289,11 mg/dL para o grupo tratado e 299,53 mg/dL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 264,11 mg/dL para o grupo tratado e 332 mg/dL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento



periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para a variável tempo versus tratado-controle somente após os 100 dias da conclusão do tratamento periodontal ( $P_3=0,008$ ) (Tabela 7, Figura 4C).

A média da interleucina 1- $\beta$  foi 125,35pg/mL para o grupo tratado e 138,06pg/mL para o grupo controle, no início do tratamento; 110,58pg/mL para o grupo tratado e 135,86pg/mL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 98,70pg/mL para o grupo tratado e 132,93pg/mL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 < 0,0001$ ) (Tabela 7, Figura 4D).

A média da interleucina 6 foi 145,76 pg/mL para o grupo tratado e 155,73 pg/mL para o grupo controle, no início do tratamento; 126,76 pg/mL para o grupo tratado e 151,66 pg/mL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 112,64 pg/mL para o grupo tratado e 149,86 pg/mL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 < 0,0001$ ) (Tabela 7, Figura 4E).

A média do fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) foi 161,11 pg/mL para o grupo tratado e 181,80 pg/mL para o grupo controle, no início do tratamento; 143,41 pg/mL para o grupo tratado e 178,33 pg/mL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 136,94 pg/mL para o grupo tratado e 177,06 pg/mL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 < 0,0001$ ) (Tabela 7, Figura 4F).

A média do interferon-gama foi 200  $\mu$ g/mL para o grupo tratado e 204,53  $\mu$ g/mL para o grupo controle, no início do tratamento; 174,05  $\mu$ g/mL para o grupo tratado e 202,73  $\mu$ g/mL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; e 161,47  $\mu$ g/mL para o grupo tratado e 199,13  $\mu$ g/mL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 \leq 0,002$ ) (Tabela 7, Figura 4G).

A média da interleucina 10 foi 90,35pg/mL para o grupo tratado e 89,66pg/mL para o grupo controle, no início do tratamento; 121,70pg/mL para o grupo tratado e 91 pg/mL para o grupo controle, após 40 dias do final do tratamento periodontal; 136,41 pg/dL para o grupo tratado e 88,73 pg/mL para o grupo controle, após os 100 dias do final do tratamento periodontal. Os resultados mostraram-se significativos para as três variáveis de significância ( $P_1, P_2$  e  $P_3 \leq 0,001$ ) (Tabela 7, Figura 4H).

Tabela 1 – População Experimental: tabela descritiva das características gerais

	Todos	Tratados	Controles	Valor P <sup>a</sup>
N	32	17	15	-
Idade (Anos)	51,8 (7,0)	52,2 (7,5)	51,4 (6,6)	0,741
Gênero				
Homens	16 (50,0)	9 (52,9)	7 (46,7)	0,723
Mulheres	16 (50,0)	8 (47,1)	8 (53,3)	
Tabagismo				
Não tabagistas	15 (46,9)	7 (41,2)	8 (53,3)	0,813
Ex-tabagistas	11 (34,4)	6 (35,3)	5 (33,3)	
Tabagistas	6 (18,7)	4 (23,6)	2 (13,4)	
Número de cigarros nos tabagistas <sup>b</sup>	13,5 (11,8)	-	-	-
Tempo de uso nos tabagistas (anos) <sup>b</sup>	28,5 (16,8)	-	-	-
Número de cigarros nos ex-tabagistas <sup>b</sup>	10,0 (16,5)	-	-	-
Tempo de uso nos ex-tabagistas (anos) <sup>b</sup>	25,0 (20,0)	-	-	-
Consumo de Álcool				
Não	24 (75,0)	14 (82,4)	10 (66,7)	0,423
Sim	8 (25,0)	3 (17,6)	5 (33,3)	
Etnia				
Autodeclarado Pardo	3 (9,4)	2 (11,8)	1 (6,7)	1,000
Autodeclarado Branco	29 (90,6)	15 (88,2)	14 (93,3)	
Peso (Kg)	77,7 (12,1)	79,7 (14,7)	75,5 (8,1)	0,331
Altura (metros)	1,7 (0,10)	1,7 (0,10)	1,7 (0,09)	0,605
Índice de Massa Corpórea (Kg/m <sup>2</sup> )	27,3 (4,1)	27,7 (5,1)	26,8 (2,8)	0,573
Nº de dentes no início do tratamento <sup>b</sup>	23,5 (9,0)	26 (7,5)	19,0 (6,0)	0,097

Legenda:

Os dados estão expressos como média e (desvio padrão) ou n e (%);

<sup>a</sup>Tratados *versus* controles (teste t para amostras independentes ou teste U de Mann-Whitney e qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher);

<sup>b</sup>Mediana e (amplitude interquartil).

Tabela 2 – Características sócio-culturais e sócio-demográficas da amostra investigada

	Todos	Tratados	Controles	Valor P <sup>a</sup>
N	32	17	15	
Nível educacional				
1 grau incompleto	14 (43,7)	7 (41,2)	7 (46,6)	
1 grau completo	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	
2 grau incompleto	1 (3,1)	1 (5,9)	0 (0,0)	-
2 grau completo	13 (40,6)	7 (41,2)	6 (40,0)	
Ensino superior	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	
Profissão				
Agricultor (a)	7 (21,9)	3 (17,6)	4 (26,7)	
Comerciante	3 (9,4)	2 (11,8)	1 (6,7)	
Aposentado (a)	4 (12,5)	3 (17,6)	1 (6,7)	
Desempregado (a)	2 (6,25)	1 (5,9)	1 (6,7)	
Dona de casa	2 (6,25)	0 (0,0)	2 (13,3)	-
Faxineira	2 (6,25)	2 (11,8)	0 (0,0)	
Motorista	2 (6,25)	1 (5,9)	1 (6,7)	
Outras	10 (31,3)	5 (29,5)	5 (33,3)	
Higiene bucal				
Boa	15 (46,9)	8 (47,1)	7 (46,6)	
Muito boa/Excelente	7 (21,9)	1 (5,9)	6 (40,0)	0,031 <sup>b</sup>
Ruim/Péssima	10 (31,3)	8 (47,1)	2 (13,3)	
Número de escovações por dia				
1 vez	1 (3,1)	1 (5,9)	0 (0,0)	
2 vezes	6 (18,8)	4 (23,5)	2 (13,3)	
3 vezes	23 (71,9)	11 (64,7)	12 (80,0)	0,824
Mais do que 3 vezes	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	
Uso de fio dental				
Não usa	12 (37,5)	9 (52,9)	3 (20,0)	
Usa	19 (59,4)	8 (47,1)	11 (73,3)	0,100
Usa às vezes	1 (3,1)	0 (0,0)	1 (6,7)	
Faz bochechos				
Não Faz	17 (53,1)	9 (52,9)	8 (53,3)	
Faz	15 (46,9)	8 (47,1)	7 (46,6)	1,000
Mau hálito				
Não tem	8 (25,0)	3 (17,6)	5 (33,3)	
Tem	16 (50,0)	11 (64,7)	5 (33,3)	
Tem às vezes	6 (18,8)	3 (17,6)	3 (20,0)	0,232
Não sabe	2 (6,25)	0 (0,0)	2 (13,3)	
Última vez que foi ao dentista (meses) <sup>c</sup>	12,0 (21,0)	12,0 (16,0)	4 (22,5)	0,278

Legenda:

Os dados estão expressos como n e (%);

<sup>a</sup>Tratados *versus* controles (qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher)

<sup>b</sup>Análise de resíduos: 'Boa', Tratados *versus* controles, (P = 0,928); 'Muito boa/Excelente', Tratados *versus* controles, (P = 0,020); e 'Ruim/Péssima', Tratados *versus* controles (P = 0,040);

<sup>c</sup>Mediana e (amplitude interquartil - teste U de Mann-Whitney).

Tabela 3 – Características médicas e histórico médico familiar da amostra investigada

	Todos	Tratados	Controles	Valor P <sup>a</sup>
N	32	17	15	-
<b>História médica</b>				
Dislipidemias	4 (12,5)	2 (11,8)	2 (13,3)	1,000
Hipertensão Arterial	4 (12,5)	2 (11,8)	2 (13,3)	1,000
Hepatite	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	1,000
Câncer	1 (3,1)	0 (0,0)	1 (6,7)	0,469
Transtornos de Humor	2 (6,3)	0 (0,0)	2 (13,3)	0,212
Outra história médica	13 (40,6)	6 (35,3)	7 (46,7)	0,720
Sem história médica	8 (25,0)	6 (35,3)	2 (13,3)	0,229
<b>Uso de medicação</b>				
Hipoglicemiantes	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	1,000
Hipolipemiantes	3 (9,4)	1 (5,9)	2 (13,3)	0,589
Anti-hipertensivos	6 (18,8)	3 (17,6)	3 (20,0)	1,000
Diuréticos	2 (6,3)	0 (0,0)	2 (13,3)	0,212
Antidepressivos	4 (12,5)	1 (5,9)	3 (20,0)	0,319
Reposição hormonal	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	1,000
Outros medicamentos	10 (31,2)	6 (35,3)	4 (26,7)	1,000
Não usa medicação	15 (46,9)	10 (58,8)	5 (33,3)	0,149
<b>História Familiar</b>				
Acidente Vascular Cerebral	7 (21,9)	4 (23,5)	3 (20,0)	1,000
Hipertensão Arterial	10 (31,3)	6 (35,3)	4 (26,7)	0,712
Infarto Agudo do Miocárdio	7 (21,9)	4 (23,5)	3 (20,0)	1,000
<i>Diabetes Mellitus</i>	3 (9,4)	2 (11,8)	1 (6,7)	1,000
Câncer	6 (18,8)	1 (5,9)	5 (33,3)	0,076
Doenças Periodontais	14 (43,8)	9 (52,9)	5 (33,3)	0,265
Asma	1 (3,1)	1 (5,9)	0 (0,0)	1,000
Outras doenças	2 (6,3)	1 (5,9)	1 (6,7)	1,000
Sem história de doença	5 (15,6)	2 (11,8)	3 (20,0)	0,645
<b>Cardiologista</b>				
Já foi	25 (78,1)	13 (76,5)	12 (80,0)	1,000
Tempo da última consulta (anos) <sup>b</sup>	2,0 (6,0)	2,0 (8,5)	2,0 (3,5)	0,769
Faz tratamento atualmente	4 (12,5)	2 (11,8)	2 (13,3)	1,000

Legenda:

Os dados estão expressos como n e (%);

Transtornos de Humor: transtorno depressivo maior e transtorno de ansiedade generalizada;

<sup>a</sup>Tratados versus controles (qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher);

<sup>b</sup>Mediana e (amplitude interquartil - teste U de Mann-Whitney).

Tabela 4 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre parâmetros clínicos periodontais

Parâmetros	Avaliação 1 Média (EP)	Avaliação 2 Média (EP)	Avaliação 3 Média (EP)	Wald	df	Valor P <sub>1</sub>	Wald	Df	Valor P <sub>2</sub>	Wald	df	Valor P <sub>3</sub>
Número de dentes	22,6 (0,9)	22,2 (0,9)	22,1 (0,9)	8,150	2	0,017	1,629	1	0,202	7,553	2	0,023
Número de sítios	135,4 (5,3)	133,3 (5,6)	132,7 (5,7)	8,150	2	0,017	1,629	1	0,202	7,553	2	0,023
% de sítios doentes	36,3 (2,9)	25,7 (2,7)	22,0 (2,3)	64,428	2	<0,0001	0,923	1	0,337	77,171	2	<0,0001
PS ≥4mm	48,5 (4,3)	33,7 (3,7)	28,3 (3,1)	95,432	2	<0,0001	0,254	1	0,614	89,080	2	<0,0001
PS ≥6mm	15,1 (2,4)	7,1 (1,4)	6,5 (1,4)	51,706	2	<0,0001	2,819	1	0,093	95,713	2	<0,0001
SS	28,8 (2,8)	13,0 (1,6)	14,6 (2,3)	65,957	2	<0,0001	9,398	1	0,002	107,576	2	<0,0001
MPS ≥4mm	5,1 (0,08)	4,8 (0,09)	4,8 (0,09)	30,224	2	<0,0001	0,499	1	0,480	39,314	2	<0,0001
MNI	4,2 (0,16)	4,0 (0,18)	4,0 (0,17)	14,030	2	0,001	0,932	1	0,334	94,509	2	<0,0001
MPI	0,72 (0,11)	0,88 (0,13)	0,84 (0,13)	30,626	2	<0,0001 <sup>a</sup>	3,055	1	0,080	2,519	2	0,284
	Avaliação 1 n (%)	Avaliação 2 n (%)	Avaliação 3 n (%)	Wald	df	Valor P <sub>1</sub>	Wald	df	Valor P <sub>2</sub>	Wald	df	Valor P <sub>3</sub>
Lesão de furca												
Não	22 (68,8)	22 (68,8)	23 (71,9)	1,064	1	0,302	0,170	1	0,680	1,064	1	0,302
Sim	10 (31,2)	10 (31,2)	9 (28,1)									
Lesão de mobilidade												
Não	17 (53,1)	20 (62,5)	21 (65,6)	2,811	2	0,245	0,966	1	0,326	7,032	2	0,026
Sim	15 (46,9)	12 (37,5)	11 (34,4)									

Legenda:

Os dados estão expressos como média e (erro padrão) na amostra total ou como n e (%) na amostra total;

PS: número de bolsas com profundidade de sondagem; SS: sangramento com sondagem; NI: nível de inserção;

df: *degrees of freedom*;

Valor P<sub>1</sub>: efeito da variável ‘tempo’ (três avaliações ao longo de seis meses);

Valor P<sub>2</sub>: efeito da variável ‘tratado-controle’;

Valor P<sub>3</sub>: efeito da variável ‘interação tempo\*tratado-controle’;

<sup>a</sup>O resultado da primeira avaliação difere significativamente do da segunda avaliação (P <0,001) e do da terceira avaliação (P = 0,009).

Tabela 5 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre parâmetros cardiológicos

<b>Parâmetros</b>	<b>Avaliação 1 Média (EP)</b>	<b>Avaliação 2 Média (EP)</b>	<b>Avaliação 3 Média (EP)</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Valor P<sub>1</sub></b>	<b>Wald</b>	<b>Df</b>	<b>Valor P<sub>2</sub></b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Valor P<sub>3</sub></b>
Número de pontos	241,1 (1,7)	-	243,4 (1,5)	0,430	1	0,512	6,254	1	0,012 <sup>a</sup>	0,157	1	0,692
IMT-médio (mm)	0,82 (0,06)	-	0,83 (0,07)	0,029	1	0,866	1,663	1	0,197	7,617	1	0,006
IMT-máximo (mm)	1,17 (0,08)	-	1,16 (0,09)	0,000	1	0,985	3,189	1	0,074	5,591	1	0,018
IMT-mínimo (mm)	0,50 (0,05)	-	0,41 (0,04)	4,095	1	0,043	0,634	1	0,426	0,106	1	0,744
	<b>Avaliação 1 n (%)</b>	<b>Avaliação 2 n (%)</b>	<b>Avaliação 3 n (%)</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Valor P<sub>1</sub></b>	<b>Wald</b>	<b>Df</b>	<b>Valor P<sub>2</sub></b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Valor P<sub>3</sub></b>
Placas nas carótidas												
Não	26 (81,2)	-	24 (75,0)	2,316	1	0,128	1,600	1	0,128	2,316	1	0,128
<50%	6 (18,2)	-	8 (25,0)									
Condição												
Normal	21 (65,6)	-	20 (62,5)	0,032	1	0,858	0,154	1	0,695	0,732	1	0,382
Estenose/espessamento	11 (34,4)	-	12 (37,5)									

Legenda:

Os dados estão expressos como média e (erro padrão) na amostra total ou como n e (%) na amostra total;

IMT: *intima-media thickness*;

df: *degrees of freedom*;

Valor P<sub>1</sub>: efeito da variável ‘tempo’ (três avaliações ao longo de seis meses);

Valor P<sub>2</sub>: efeito da variável ‘tratado-controle’;

Valor P<sub>3</sub>: efeito da variável ‘interação tempo\*tratado-controle’;

<sup>a</sup>Média estimada global e (erro padrão) no grupo controle: 240,5 (2,4); média estimada global e (erro padrão) no grupo tratado: 247,4 (1,4).

Tabela 6 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre o perfil lipídico

Parâmetros	Avaliação 1 Média (EP)	Avaliação 2 Média (EP)	Avaliação 3 Média (EP)	Wald	df	Valor P <sub>1</sub>	Wald	df	Valor P <sub>2</sub>	Wald	Df	Valor P <sub>3</sub>
Colesterol Total (mg/dL)	218,6 (8,0)	209,1 (7,0)	216,3 (6,4)	6,580	2	0,037 <sup>a</sup>	5,170	1	0,023 <sup>b</sup>	1,653	2	0,438
Colesterol HDL (mg/dL)	52,4 (2,0)	53,3 (2,1)	51,3 (2,2)	4,350	2	0,114	0,306	1	0,580	4,250	2	0,119
Colesterol LDL(mg/dL)	132,1 (6,5)	119,0 (6,7)	133,2 (5,4)	15,545	2	<0,0001 <sup>c</sup>	4,415	1	0,036 <sup>d</sup>	1,712	2	0,425
Triglicerídeos (mg/dL)	169,9 (23,4)	182,0 (27,4)	158,0 (14,4)	2,577	2	0,276	1,119	1	0,290	0,126	2	0,939
oxLDL (mg/dL)	0,75 (0,09)	0,71 (0,09)	0,62 (0,08)	66,673	2	<0,0001	5,279	1	0,022	35,887	2	<0,0001
anti-oxLDL (mg/dL)	11,8 (0,8)	11,4 (0,8)	10,4 (0,8)	57,998	2	<0,0001	6,072	1	0,014	27,348	2	<0,0001

Legenda:

Os dados estão expressos como média e (erro padrão) na amostra total;

df: *degrees of freedom*;

Valor P<sub>1</sub>: efeito da variável ‘tempo’ (três avaliações ao longo de seis meses);

Valor P<sub>2</sub>: efeito da variável ‘tratado-controle’;

Valor P<sub>3</sub>: efeito da variável ‘interação tempo\*tratado-controle’;

<sup>a</sup>A avaliação 1 difere significativamente da avaliação 2 (P = 0,045);

<sup>b</sup>Média estimada global e (erro padrão) no grupo controle: 229,8 (9,4); média estimada global e (erro padrão) no grupo tratado: 200,0 (9,5);

<sup>c</sup>A avaliação 1 difere significativamente da avaliação 2 (P = 0,003) e a avaliação 2 difere significativamente da avaliação 3 (P = 0,004);

<sup>d</sup>Média estimada global e (erro padrão) no grupo controle: 140,0 (6,9); média estimada global e (erro padrão) no grupo tratado: 116,2 (9,0).

Tabela 7 – Modelos de equações de estimativas generalizadas (GEEs) para avaliar o efeito do tratamento ao longo do seguimento sobre os marcadores inflamatórios

<b>Parâmetros</b>	<b>Avaliação 1 Média (EP)</b>	<b>Avaliação 2 Média (EP)</b>	<b>Avaliação 3 Média (EP)</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Valor P<sub>1</sub></b>	<b>Wald</b>	<b>Df</b>	<b>Valor P<sub>2</sub></b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Valor P<sub>3</sub></b>
PCR-u (mg/dL)	4,7 (0,8)	3,7 (0,5)	4,9 (0,8)	5,950	2	0,051	0,041	1	0,840	4,435	2	0,109
Fibrinogênio (mg/dL)	294,3 (9,6)	294,3 (10,5)	298,1 (10,3)	0,180	2	0,914	3,136	1	0,077	9,615	2	0,008
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	131,7 (2,9)	123,2 (2,6)	115,8 (2,8)	197,717	2	<0,0001	19,628	1	<0,0001	87,502	2	<0,0001
IL-6 (pg/mL)	150,7 (2,9)	139,2 (2,4)	131,3 (2,7)	136,992	2	<0,0001	22,595	1	<0,0001	73,640	2	<0,0001
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	171,5 (4,1)	160,9 (3,5)	157,0 (3,2)	80,844	2	<0,0001	20,181	1	<0,0001	36,612	2	<0,0001
INF $\gamma$ ( $\mu$ g/mL)	202,3 (5,1)	187,8 (3,7)	179,3 (3,7)	100,394	2	<0,0001	9,295	1	0,002	40,098	2	<0,0001
IL-10 (pg/mL)	90,0 (4,5)	106,4 (4,2)	112,6 (3,7)	63,479	2	<0,0001	11,580	1	0,001	71,322	2	<0,0001

Legenda:

Os dados estão expressos como média e (erro padrão) na amostra total;

df: *degrees of freedom*;

Valor P<sub>1</sub>: efeito da variável ‘tempo’ (três avaliações ao longo de seis meses);

Valor P<sub>3</sub>: efeito da variável ‘tratado-controle’;

Valor P<sub>3</sub>: efeito da variável ‘interação tempo\*tratado-controle’.



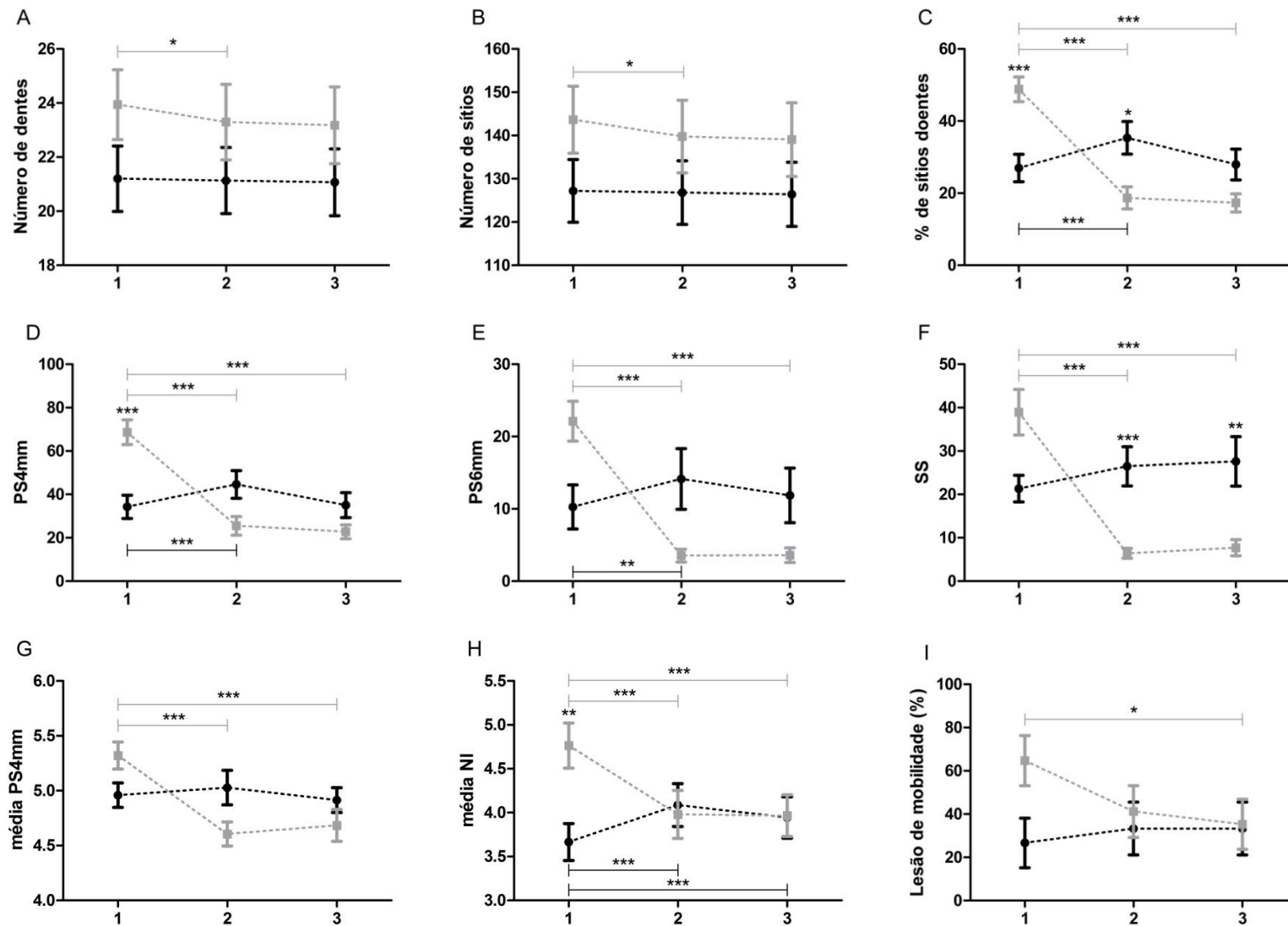


Figura 2 – Comparações Post Hoc das interações ‘tempo\*tratado-control’ significativas descritas na Tabela 4. PS: número de bolsas com profundidade de sondagem; SS: sangramento com sondagem; NI: nível de inserção. \* $P \leq 0.050$ ; \*\* $P \leq 0.010$ ; \*\*\* $P \leq 0.001$ . Trajetórias em cinza representam o grupo tratado, enquanto que trajetórias em preto representam o grupo controle.

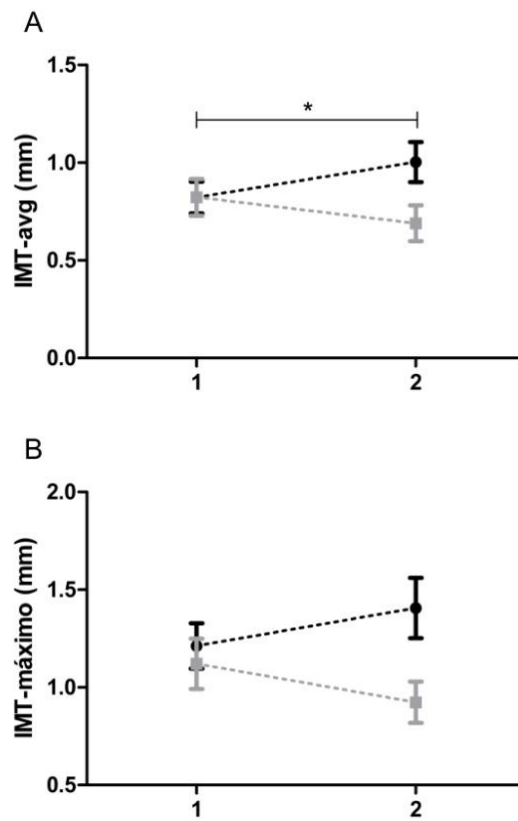


Figura 3 – Comparações Post Hoc das interações ‘tempo\*tratado-controle’ significativas descritas na Tabela 5. IMT: *intima-media thickness*. \* $P \leq 0.050$ . Trajetórias em cinza representam o grupo tratado, enquanto que trajetórias em preto representam o grupo controle. B) Nenhuma diferença significativa foi detectada após a correção de *Bonferroni*.

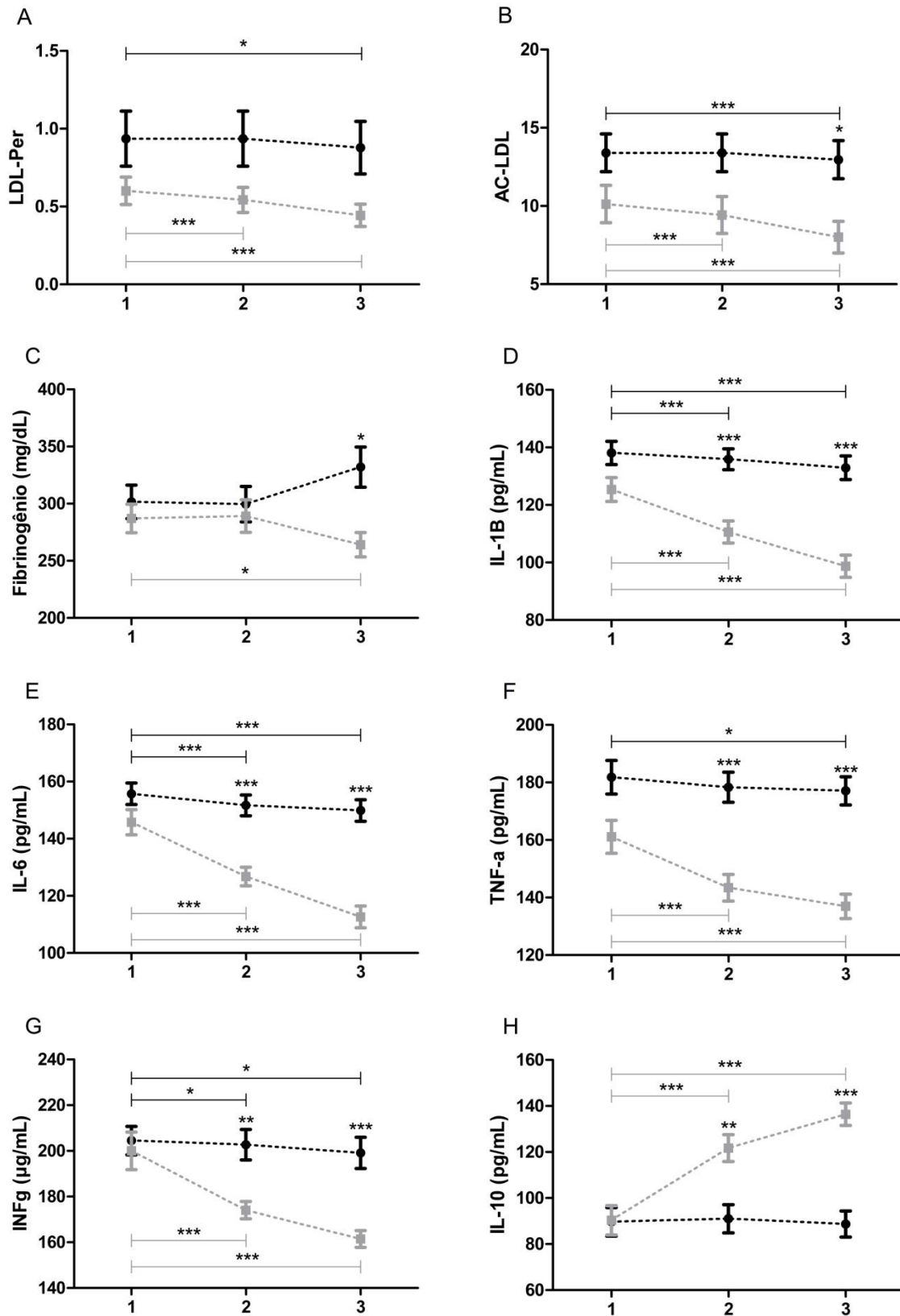


Figura 4 – Comparações Post Hoc das interações ‘tempo\*tratado\*controle’ significativas descritas nas Tabelas 6 e 7. \* $P \leq 0.050$ ; \*\* $P \leq 0.010$ ; \*\*\* $P \leq 0.001$ . Trajetórias em cinza representam o grupo tratado, enquanto que trajetórias em preto representam o grupo controle.

## 6 DISCUSSÃO

O impacto das doenças periodontais sobre os indivíduos e comunidades é considerável em termos de doença e sofrimento comprometendo a função e reduzindo a qualidade de vida e causando um ônus em relação aos custos do tratamento (TONETTI; VAN DYKE, 2013). Por isso, tanto a abordagem preventiva como o tratamento das doenças periodontais tanto no setor público como no setor privado traz resultados consistentes na saúde da população. O aprimoramento do conhecimento e o avanço científico no binômio “doenças periodontais - doenças cardiovasculares” poderão trazer benefícios reais a população e isso é uma preocupação na saúde pública, já que os resultados destes alavancam a hipótese de diminuir a mortalidade dos indivíduos.

As doenças cardiovasculares são as doenças sistêmicas com maior prevalência em muitos países, também representando um fardo econômico no sistema de saúde pública. As doenças periodontais e as doenças cardiovasculares apresentam uma série de aspectos em comum, compartilhando alguns fatores de risco. Além disso, dados epidemiológicos de estudos vêm sendo reportado a mais de 30 anos sugerindo uma ligação entre periodontite e doenças cardiovasculares e há poucos anos que existem mais estudos de intervenção. Entretanto, há um número limitado de evidências e ainda hoje não existe um consenso e o meio científico permanece a debater sobre o tema. Desta forma, trabalhos como o presente estudo de intervenção estão sendo realizados para elucidar a relação entre as doenças periodontais e as doenças cardiovasculares, e os reais efeitos da terapia periodontal nos marcadores de risco para os eventos cardiovasculares e aterosclerose subclínica.

A determinação da amostra deste estudo, onde os pacientes deveriam ter periodontite severa (ou seja, exame de profundidade de sondagem com bolsas periodontais maiores ou iguais a 6mm) está de acordo com a amostra eleita pelas estudos de intervenção que vêm sendo realizados (D’AIUTO et al., 2004, 2006; VIDAL et al., 2009). A escolha de uma amostra com periodontite severa se deve a maior probabilidade de uma carga bacteriana infecciosa ter um maior impacto sistêmico. Os resultados do tratamento periodontal na amostra deste estudo demonstraram ser mais eficazes comparado com amostras de outros estudos (D’AIUTO et al., 2004). As hipóteses que poderiam explicar esses resultados seriam por ser uma amostra, na maior parte com periodontite crônica severa localizada, pelo tratamento ter sido realizado em clínica privada e/ou por ser uma amostra pequena e com mais controle por parte do periodontista no desenvolvimento do tratamento. Assim como

D'aiuto et al. (2006) e Tonetti et al. (2007) optamos por uma abordagem estatística que engloba todos os parâmetros ao longo do tempo para verificar se o tratamento utilizado teve qualquer impacto sobre estes marcadores.

Neste estudo houve uma permissão ética para haver um grupo controle não tratado por um período médio de 6 meses (tempo entre o início do estudo e a última coleta sorológica após 100 dias do tratamento periodontal), e que foram devidamente tratados após este período. Isto foi possível, pois o tratamento de 17 pacientes que pertenciam ao grupo tratado (6 a 8 pacientes por dia) por um periodontista (L.C.), envolveu parte do período das análises do grupo controle. A presença de um grupo controle neste trabalho só foi possível por que a última etapa envolveu apenas 100 dias após o tratamento periodontal e por ser uma amostra de 32 indivíduos. Assim como em estudos similares, com o tamanho da amostra de 40 (D'AIUTO et al., 2006), 35 (PICONI et al., 2009), 32 (HIGASHI et al., 2008), 22 (VIDAL et al., 2009) e 20 indivíduos (FENTOGLU et al., 2010) em que todos dispuseram de um grupo controle.

Os pacientes não foram obrigados a participar, e caso houvesse maior urgência, conforme o diagnóstico dado, poderiam buscar atendimento a priori. Apenas três pacientes do grupo controle com maior severidade da doença periodontal, já randomizados, queixaram-se da demora e relataram urgência no decorrer do trabalho, o que imediatamente, por questões éticas foram encaixados no grupo tratado. Este remanejamento e/ou o acaso poderia explicar as diferenças significativas entre os grupos dos parâmetros periodontais no início do tratamento.

A análise longitudinal de 100 dias em nosso estudo não prejudicou o grupo controle. Entretanto, D'aiuto et al. (2004) fez uma análise longitudinal com um tempo maior após o tratamento (60 e 180 dias) com uma amostra maior de 94 indivíduos, e devido a condição clínica avançada não foi possível ter um grupo controle por questões éticas, relatando em sua discussão ser uma limitação do próprio trabalho. O autor relata que a resposta ao tratamento periodontal não foi homogênea, e por isso a amostra foi controlada neste quesito. Entretanto, D'aiuto et al. (2006) fez outro estudo mais tarde, onde reduziu a amostra para 40 indivíduos, e com a permissão do comitê de ética da University College London Hospitals permitiu a alocação de um grupo controle. Piconi et al. (2009) afirma que na sua análise longitudinal, o efeito do tratamento periodontal é limitado no tempo e, por isso índice de placa, PCR e fibrinogênio, além de marcadores imunológicos tenderam a aumentar em até 12 meses de tratamento. Observamos que os pacientes necessitariam de reintervenção terapêutica após os cem dias do tratamento periodontal, o que limitaria o estudo caso optar por avaliações dos parâmetros por um tempo maior que cem dias.

Em uma revisão sistemática recente (D'AIUTO; ORLANDI; GUNSOLLEY, 2013) foi relatado que vários autores têm utilizado o índice médio-intimal (IMT) das artérias carótidas nos estudos de intervenção, embora nenhuma evidência foi encontrada nos efeitos da terapia periodontal no IMT ou outras medidas de aterosclerose subclínica. O autor sugere que mais estudos (ensaios clínicos multicêntricos) deveriam ser realizados para demonstrar os efeitos positivos nas doenças cardiovasculares, e critica que a maioria dos ensaios clínicos encontrados foram realizados em universidades e ambientes hospitalares, o que não representaria muito bem o cotidiano do atendimento clínico periodontal. No nosso estudo, todas os tratamentos e análise foram realizadas em ambiente privativo, consultórios e por clínicos especializados, representado exatamente a clínica de um periodontista, um ambulatório não acadêmico de coletas e análises de sangue, e clínica particular para ultrassonografia de carótidas. Vale salientar, que houver rigor metodológico em todas as etapas e todos os pacientes responderam bem ao tratamento, não necessitando o controle estatístico neste quesito.

A terapia periodontal consiste em remoção mecânica da placa bacteriana aderida a superfícies dentária, e em resposta o organismo responde através de um processo inflamatório, onde alguns estudos demonstram que os marcadores imediatamente (primeiro dia após terapia periodontal) aumentam como o PCR, IL-6 e TNF- $\alpha$  (TONETTI et al., 2007). Entretanto, após 2 e 6 meses da terapia periodontal intensiva, os trabalhos confirmam uma redução significativa de IL-6 (D'AIUTO et al., 2004; HIGASHI et al., 2008; VIDAL et al., 2009), assim como após 3 meses a redução de TNF- $\alpha$  (SUN et al., 2011; VIDAL et al., 2009) estando de acordo com os resultados de nosso estudo. Entretanto, os resultados deste estudo com PCR, não mostraram reduções significativas. A hipótese para explicar este resultado pode ser biológica, pois a redução de interleucinas precede às proteínas de fase aguda, pois são produzidas pelo fígado desencadeado por um estímulo como os níveis de citocinas pró-inflamatórias aumentadas. A redução do PCR seria um resultado a ser avaliado a longo prazo, como mostra alguns estudos a sua redução somente em 6 meses após a terapia antimicrobiana (ANDERSON et al., 1999; HIGASHI et al., 2008). Além do significado no resultado da terapia periodontal, os níveis séricos de PCR seriam associados com uma variedade de outros fatores de exposição do paciente, conhecidos, como o tabagismo, o índice de massa corpórea, a idade do paciente.

Fentoglu et al. (2010) avaliou 20 pacientes com hiperlipedemia por um período de 6 meses, e criou uma amostra controle dentro do mesmo grupo, ao longo do tempo. Nos primeiros três meses tratou os pacientes com estatina, sendo chamado de período controle, e

após três meses realizou o tratamento periodontal, sendo chamado de período teste. Nos três períodos, início do estudo, 3 meses e 6 meses (3 meses após terapia periodontal) avaliou o perfil lipídico e os níveis sorológicos do PCR. O autor observou melhora no perfil lipídico, reduzindo significativamente o colesterol total e LDL, embora não ter havido alteração nos níveis de triglicerídeos, HDL (lipoproteína de alta densidade) e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), e um aumento significativo nos níveis sorológicos de PCR. O autor dá uma explicação biológica dizendo que PCR parece estar associado com os níveis de lipoproteínas séricas que transportam o PCR, ao invés de estar relacionada à instrumentação periodontal. Assim, estaria relacionado ao PCR livre e circulante do que com aquele que é sintetizado. A mesma explicação biológica pode ser dada para os efeitos não significativos de PCR ao longo do tempo em nosso estudo.

Os estudos têm demonstrando que a infecção promove uma série de mudanças, interferindo na biologia das células endoteliais e musculares que poderiam predispor o organismo para a aterosclerose. Entre essas mudanças estão efeitos pró-coagulantes, aumentada expressão e atividade de receptores, captação reforçada do colesterol e do LDL modificado, aumentada expressão das moléculas adesinas e das citocinas inflamatórias, aumentada proliferação e migração das células musculares lisas e efeitos antiapoptóticos. Além disso, denominados patógenos podem exercer efeitos pró-ateroscleróticos nos macrófagos pela transformação dos macrófagos em “células espuma” e pela estimulação dos macrófagos em expressar citocinas que poderiam levar à instabilidade e até a ruptura da placa aterosclerótica (EPSTEIN et al., 2000). A inflamação em qualquer órgão do corpo causa edema, ou seja, um aumento tecidual, e isto é facilmente visualizado pelo periodontista, que nota diminuição do tamanho em espessura das gengivas. Este resultados levantam a hipótese de que, a diminuição das citocinas inflamatórias, do LDL modificado e seus anticorpos como foi verificado neste estudo em todas as análises poderiam, por consequência diminuir a migração de células nas paredes dos vasos, reduzir o edema inflamatório presente na aterosclerose, e assim reduzir significativamente a espessura do índice médio intimal, constado nos resultados que obtivemos neste trabalho após 100 dias do tratamento periodontal intensivo.

Cairo et al. (2008) observou noventa indivíduos sistemicamente saudáveis, 45 afetados pela periodontite severa e 45 controle, sem história de doença periodontal e avaliou o IMT de toda a amostra. Os resultados levaram a conclusão que a aterosclerose subclínica está associada a periodontite severa. Estes dados foram confirmados por Castagna (2009) que avaliou 217 indivíduos aleatoriamente e observou que as medidas de IMT eram mais elevadas

em paciente com doença periodontal crônica severa. Existem ainda vários outros estudos mostrando associação de IMT e DP (BECK; EKE; LIN, 2005; DESVARIEUX et al., 2005; LEIVADOROS et al., 2005), entretanto são poucos os estudos de intervenção que utilizaram a variável IMT e os resultados que temos até a presente data também demonstraram, como o presente estudo, redução nos valores do índice médio-intimal (PICONI et al., 2009).

Higashi (2008) analisou os níveis sorológicos de triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL, em um estudo similar de intervenção com a terapia periodontal e observou redução significativa apenas com PCR e IL-6 após 24 semanas no grupo tratado. Os resultados do perfil lipídico, incluindo triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL e LDL também não sofreram alterações após 6 meses do tratamento periodontal (PISHON et al., 2007). Em nosso estudo, também não houve alterações significativas nos níveis de triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL. Assim, parece que mesmo a análise após um tempo mais longo não interfira nos níveis lipídicos. Entretanto, os lipídios que sofrem influências de radicais livres e do perfil inflamatório, o LDL oxidado e seus anticorpos sofreram redução após os 100 dias do tratamento periodontal em nosso estudo. Através destes resultados que obtivemos, averiguamos e indicamos que estas variáveis seriam mais úteis na análise do perfil lipídico em estudos de intervenção similares.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento periodontal em um conjunto de fatores de risco cardiovascular tradicionais e inovadores, tais como os níveis de lipídios, os marcadores inflamatórios sistêmicos incluindo IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , fibrinogênio, INF $\gamma$  e o índice médio intimal (IMT) das artérias carótidas. Os marcadores inflamatórios já estão bem estabelecidos no desenvolvimento da aterosclerose e são úteis como preditivos do alto risco cardiovascular entre os indivíduos de meia-idade. D'aiuto et al. (2006) afirma que se a periodontite for o principal estímulo inflamatório em pelo menos alguns pacientes com periodontite, então as infecções periodontais graves podem representar um importante fator etiológico para a aterosclerose, síndrome metabólica e suas seqüelas. Entretanto, há um número limitado de estudos de intervenção que analisam os efeitos da terapia periodontal nos marcadores inflamatórios eleitos neste trabalho.

As pesquisas com idosos apontam que PCR e fibrinogênio não seriam marcadores úteis para avaliação, pois permaneceriam altos em função da idade, o que não acontece com IL-6 e TNF- $\alpha$ . Isto poderia explicar a confusão dos resultados de muitos estudos. Embora, as evidências atuais sejam insuficientes, já que existem poucos estudos com idosos, sendo a maioria de curta duração e com número reduzido de marcadores inflamatórios. Vidal et al.



(2009) avaliou os efeitos da terapia periodontal nos níveis sorológicos de PCR, fibrinogênio e IL-6 em um estudo com grupo controle (n=22) e observou redução significativa nas três variáveis para o grupo tratado, também houve aumento dos níveis sorológicos de PCR, fibrinogênio e IL-6 no grupo controle, sendo significativos para PCR e IL-6 após três meses de terapia periodontal intensiva.

As universidades e os ambientes hospitalares não seriam o melhor local de representação da amostra para os ensaios de intervenção por terapia periodontal (D'AIUTO; ORLANDI; GUNSOLLEY, 2013). Neste estudo reproduzimos o cotidiano de uma clínica de periodontia, o que nos traz mais perto da realidade dos resultados e sua representação na prática clínica. Como por muitos autores sugeridos, utilizamos as medidas IMT que melhor representam associação com risco futuro de doenças cardiovasculares.

Os atuais modelos de previsão baseados nos fatores de risco conhecidos têm a capacidade de prever as doenças cardiovasculares em muitos indivíduos. No entanto, há um grande número de evidências que as pesquisas vêm nos apontando para melhorar ainda mais a previsão de risco para as doenças cardiovasculares, e ainda com o objetivo de detectar novos alvos para a terapia e melhorar os atuais prognósticos (WILSON et al., 2005). Dada a alta prevalência da periodontite crônica (ALBANDAR et al., 1999; PAPAPANOU, 1996), que afeta de 35% a 60% da população adulta nas formas leves e moderadas e 10% a 15%, nas formas mais severas (OLIVER; BROWN, LÖE, 1998), e dada a alta prevalência de morte por doenças cardiovasculares na maioria dos países desenvolvidos (WHO, 2009), reconhecemos que são necessários mais estudos com resultados conclusivos para que haja um consenso, ou mesmo recomendações da Associação Americana do Coração. Mais estudos intervencionais, com diferentes populações, são necessários para melhor elucidar a associação entre doenças periodontais e doenças cardiovasculares.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram que a terapia periodontal tem efeito benéfico sobre o perfil inflamatório sistêmico e a função endotelial, sendo uma potencial ferramenta adicional para a prevenção das doenças cardiovasculares.

## REFERÊNCIAS

- ACHARYA A et al. Cardioprotective effect of periodontal therapy in metabolic syndrome: a pilot study in Indian subjects. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**. v.8, p.335-341, 2010.
- ALBANDAR JM et al. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. **Journal of Periodontology**. v. 70, p.13-29, 1999.
- ALBANDAR JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. **Periodontology 2000. Review**. v.29, p.177-206, 2002.
- ALBERT MA et al. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation (PRINCE), a randomized trial and cohort study. **Journal American Medical Association**. v.286, p.64-70, 2001.
- AMAR S, HAN X. The impact of periodontal infection on systemic diseases. **Medical Science Monitor**. v.9, n.12, p.RA291-299, 2003.
- AMAR S et al. Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v.23, p. 1245-1249, 2003.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Heart, disease and stroke statistics – 2014 Update**. Dallas, TX: American Heart Association, 2014.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Heart, disease and stroke statistics – 2004 Update**. Dallas, TX: American Heart Association, 2008.
- AMINBAKHSH A, MANCINI GB. Carotid intima-media thickness measurements: What defines an abnormality? A systematic review. **Clinical Investigative Medicine**. v.22, p.149-57, 1999.
- ANDERSON JL et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for Chlamydia pneumonia infection. The azithromycin in coronary artery disease: elimination of Myocardial Infection with Chlamydia (ACADEMIC) study. **Circulation**. v.99, p.1540-1547, 1999.
- ARMITAGE GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Annals of Periodontology**. v.4, p. 1-6, 1999.

ARMITAGE GC. Periodontal infectious and cardiovascular diseases: how strong is the association? **Oral Disease**.v.6, 335–350; 2000.

ARMSTRONG EJ, MORROW DA, SABATINE, MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: Part I: Introduction and cytokines. **Circulation**. v.113, p.e72-e75, 2006.

ASO Y. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis. **Frontiers in Bioscience**. v.12, p. 2957-2966, 2007.

AYKAC Y et al. Beneficial effects of periodontal treatment on metabolic control of hypercholesterolemia. **Southern Medical Journal**. v.100; p.686-691; 2007.

BAECKER G de, AMBOSIONI E, BORCH-JOHSON K. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. **European Heart Journal**. v.24, p.1601-1610, 2003.

BAEHNI P, TONETTI MS. Group 1 of the European Workshop on Periodontology (2010) Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: A call for action-consensus view 1. Consensus report of the 1<sup>st</sup> European Workshop on Periodontal Education. **European Journal of Dental Education**. v.14, Supp.1:2-3, 2010.

BAHECAR AA et al. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: A metaanalysis. **American Heart Journal**. v.154, p.830-7, 2007.

BAIGENT C et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. **Lancet**. v.376, p. 1670-1681, 2010.

BALDASSARRE D et al. Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors. **Stroke**. v.31, p.2426-2430, 2000.

BALDASSARRE D et al. Carotid intima-media thickness and markers of inflammation, endothelial damage and hemostasis. **Annals of Medicine**. v.40, p.21-44, 2008.

BALLIEUX RE. Impact of stress on the immune response. **Journal of Clinical Periodontology**. v.18, p.427-430, 1991.

BAYES-GENIS A et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. **New England Journal of Medicine**. v.345, p.1022-1029, 2001.

BECK JD et al. The periodontitis and vascular events (PAVE) pilot study: adverse events. **Journal of Periodontology**. v.79, p. 90-96, 2008.

BECK JD et al. Periodontal Disease and Coronary Heart Disease: A Reappraisal of the exposure. **Circulation**. v.112, p.19-24, 2005.

BECK JD, EKE P, LIN D. Association between IgG antibody to oral organisms and carotida intima-media thickness in community-dwelling adults. **Atherosclerosis**. v.183, p.342-348, 2005.

BECK JD et al. Relationship of periodontal disease to carotid artery intima-media wall thickness: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v.21, p.1816-1822, 2001.

BECK JD et al. Periodontal disease and cardiovascular disease. **Journal of Periodontology**. v.67, p.1123-1137, 1996.

BECK JD, OFFENBACHER S. The association between periodontal diseases and cardiovascular diseases: a state-of-the-science review. **Annals of Periodontology**. v.6, p.9-15, 2001.

BECK J et al. Periodontitis: a risk factor for coronary disease? **Annals of Periodontology**. v.3, p.127-141, 1998.

BECK J, SLADE GD. Epidemiology of periodontal diseases. **Current Opinion in Periodontology** v.3, p.3-9, 1996.

BERGSTROM J, ELIASSON S, DOCK J. A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. **Journal of Periodontology**. v.71, n.8, p.1338-1347, 2000.

BERK B, WEINTRAUB W, ALEXANDER R. Elevations of C-reactive protein in “active” coronary artery disease. **American Journal of Cardiology**. v.65, p.168-172, 1990.

BERK BC et al. Endothelial atheroprotective and anti-inflammatory mechanisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.947, p.93-109, 2001.

BIASSUCI L, VITELLI A, LIUZZO G. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. **Circulation**. v.94, p.874-877, 1996.

BIELAK LF et al. Association of fibrinogen with quantity of coronary artery calcification measured by electron beam computed tomography. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. v.20, p.2167-2171, 2000.

BINDER CJ et al. Innate and acquired immunity in atherogenesis. **Nature Medicine**, v.8, n.11, p.1218-1226, 2002.

BLACK S, KUSHNER I, SAMOLS D. C-reactive protein. Review. **The Journal of Biological Chemistry**. v.279, p.48487-90, 2004.

BLAKE GJ, RIDKER PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. **Journal of Internal Medicine**. v.252, p.283-294, 2002.

BLUM A et al. Periodontal care may improve endothelial function. **European Journal of Internal Medicine**. v. 18, p.295-298, 2007.

BOCHNER BS et al. Adhesion of human basophils eosinphils, and neutrophils to interleukin-1 activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules. **Journal of Experimental Medicine**. v.173, p.1553-1557, 1991.

BOEKHOLDT SM et al. Interaction between a genetic variant of the platelet fibrinogen receptor and fibrinogen levels in determining the risk of cardiovascular events. **American Heart Journal**. v.147, p.181-186, 2004.

BOKHARI SAH et al. Non-surgical periodontal therapy lowers serum inflammatory markers: a pilot study. **Journal of Periodotology**. v.80, p.1574-1580, 2009.

BORREL LN, BURT BA, TAYLOR GW. Prevalence and trends in periodontitis in the USA. **Journal of Dental Research**. v.84, p.924-930, 2005.

BREWER HBJr. High-density lipoproteins: a new potential therapeutic target for the prevention of cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology** v.24, p.387-391, 2004.

BUHLIN K et al. Oral health and cardiovascular disease in Sweden. Results of a national questionnaire survey. **Journal Clinical of Periodontology**. v.29, p.254-259, 2002.

BUHLIN K et al. Periodontal treatment influences risk markers for atherosclerosis in patients with severe periodontitis. **Atherosclerosis**. v.206, p.518-522, 2009.

BUJAK M, FRANGOIANNIS NG. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of heart disease. **Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis**, v.57, p. 165-176, 2009.

BURT BA. Periodontitis and aging: reviewing recent evidence. **The Journal of American Dental Association**. v.125, n.3, p.273-9, 1994.

CAIRO F et al. Severe periodontitis in Young adults is associated with sub-clinical atherosclerosis. **Journal of Clinical Periodontology**. v.35, p.465-475, 2008.

CALABRO P, WILLERSON JT, YEH ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. **Circulation**. v.108; p.1930-1932, 2003.

CASTAGNA, L. Relação da doença periodontal com espessura da parede íntima-média da artéria carótida (Dissertação de Mestrado). Rio de Janeiro: Universidade do Grande Rio; 2009.

CAVUSOGLU E et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction. **American Heart Journal**. v.151, p. 1101-1108, 2006.

CELEMAJER DS, SORENSEN TJ, BENJAMIN EJ. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. **Lancet**. v.340, p.1111-1115, 1992.

CHAMBLESS LE et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. **American Journal of Epidemiology**. v.146, p.483-494, 1997.

CHAPAMAN MJ et al. Triglycerich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. **European Heart Journal**. v.32, p. 1345-1361, 2011.

CHARAKIDA M et al. Inflammatory and thrombotic processes are associated with vascular dysfunction in children with familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, v. 204, n.1, p. 532-537, 2009.

CHARAKIDA M et al. Assessment of atherosclerosis: the role of flow-mediated dilatation. **European Heart Journal**. v.31, p.2854-2861, 2010.

CHEN L et al. Effects of non-surgical periodontal treatment on clinical response, serum inflammatory parameters, and metabolic control in patients with type 2 diabetes: a randomized study. **Journal of Periodontology**. v.83, p.435-443, 2012.



CHEN J. C-reactive protein down-regulates endothelial nitric oxide synthase expression and promotes apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation end-products. **Gene**, v.496, n.2, p.128-135, 2012.

CHIU B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. **American Heart Journal**. v. 138 (5 Pt 2), p.S534- S536, 1999.

CHOBANIAN AV, BAKRIS GL, BLACK HR. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**. v.42, p.1206-1252, 2003.

CORETTI MC, ANDERSON TJ, BENJAMIN EJ. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of the artery brachial artery. **Journal of the American College of Cardiology**. v.39, p.257-265, 2002.

CORREA FO et al. Effect of periodontal treatment on metabolic control systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. **Journal of Clinical Periodontology**. v.37, p.53-58, 2010.

CUSHMAN M, ARNOLD AM, PSATY BM. C-reactive protein and the 10-year incidence of coronary heart disease in older men and women: The cardiovascular health study. **Circulation**. v.112, p.25-31, 2005.

D'AIUTO F et al. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. **Journal of Dental Research**. v.84, p.269-273, 2005.

D'AIUTO F, ORLANDI M, GUNSOLLEY JC. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. **Journal of Periodontology**. v. 84 (4 suppl.): p.S85-S105, 2013.

D'AIUTO F et al. Periodontitis and atherogenesis: causal association or simple coincidence? **Journal of Clinical Periodontology**. v.31, p.402-411, 2004.

D'AIUTO F et al. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. **Journal of Dental Research.** v.83, p.156-160, 2004.

D'AIUTO F et al. Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: Results from a randomized controlled clinical trial. **American Heart Journal.** v.151, p.977-984, 2006.

D'AIUTO F, PARKAR M, TONETTI MS. Acute effects of periodontal therapy on biomarkers of vascular health. **Journal of Clinical Periodontology.** v.34, p.124-129, 2007.

D'AIUTO F, READY D, TONETTI MS. Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. **Journal of Periodontol Research.** v.39, p.236-241, 2004.

DANESH J et al. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. **Journal of the American Medical Association.** v.279, p.1477-1482, 1998.

DANESH J et al. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? **Lancet.** v.350, p.430-436, 1997.

DANESH J, WHEELER JG, HIRSHFIELD GM. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **New England Journal of Medicine.** v.350, p.1387-1397, 2004.

DANESH J et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: a prospective study and updated meta-analyses. **British Medical Journal.** v 321, p.199-204, 2000.

DA SILVA SH, MORESCO RN. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Science Medicine,** v.21, n.3, p. 132-142, 2011.

DAVALOS D, AKASSOGLU K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. **Seminars in Immunopathology**, v.34, n.1, p.43-62, 2012.

DESTEFANO F et al. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. **British Medical Journal**. v.306, p.688-91, 1993.

DESVARIEUX M et al. Periodontal microbiota and carotida intima-thickness: The oral infections and vascular disease epidemiology study (INVEST). **Circulation**. v.111, p.576-582, 2005.

DESVARIEUX M et al. Relationship between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque: The oral infections and vascular disease epidemiology study (INVEST). **Stroke**. v.34, p.2120-2125, 2003.

DIAS LZS. **Doença periodontal como fator de risco para a doença cardiovascular**. Rio de Janeiro: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2002.

DUARTE PM et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after nonsurgical periodontal therapy: a pilot study. **Journal of Periodontology**. v.81, p.1056-1063, 2010.

DRURY TF, GARCIA I, ADESANYA M. Socioeconomic disparities in adult oral health in the United States. **Annals of the New York Academy of Sciences**. n. 896, p. 322-324, 1999.

EBERSOLE JL, CAPPELLI D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. **Periodontology 2000**. v.23, p. 19-49, 2000.

EBERSOLE JL et al. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. **Clinical and Experimental Immunology**. v.107, p.347-352, 1997.

EKE PI et al. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. **Journal of Dental Research**. v.91, p. 914-920, 2012.

ELKIND MS, COLE JW. Do common infections cause stroke? **Seminars in Neurology**. v.26, p.88-89, 2006.

ELTER JR et al. The effects of periodontal therapy on vascular function: A pilot trial. **American Heart Journal**. v.151, p.47.e1-47.e6, 2006.

EMMANUEL L. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v.29, p.1412-14-18, 2009.

EPSTEIN SE et al. Infection and atherosclerosis: pontencial roles of pathogen burden and molecular mimicry. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v. 20, p. 1417-1420, 2000.

ERNST E, RESCH KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. **Annals of Internal Medicine**. v.118, p.956-963, 1993.

ESPINOLA-KLEIN C et al. Impacto of infectious burden on progression of carotid atherosclerosis. **Stroke**. v.33, p.2581-2586, 2002.

FENTOGLU O et al. Serum lipoprotein-associated phospholipase A(2) and C-reactive protein levels in association with periodontal disease and hyperlipidemia. **Journal of Periodontology**. v.82, p.350-359, 2011.

FENTOGLU O et al. Shortterm effects of periodontal therapy as an adjunct to anti-lipemic treatment. **Oral Diseases**. v.16, p.648-654, 2010.

FIEHN NE et al. Identification of periodontal pathogens in atherosclerotic vessels. **Journal of Periodontology**. v.76, 731–736, 2005.

FLEMMIG TF. Periodontitis. **Annals of Periodontology**. v.4, n.1, p.32-38, 1999.

FONG IW. Emerging relations between infectious diseases and coronary artery disease and atherosclerosis. **Canadian Medical Association Journal**. v.163, p.49-56, 2000.

FORRESTER JS et al. Increasing high-density lipoprotein cholesterol in dyslipidemia by cholesteryl ester transfer protein inhibition. **Circulation**, v.111, p.1847–1854, 2005.

FRANEK E et al. Chronic periodontitis in hemodialysis patients with chronic kidney disease is associated with elevated serum C reactive protein concentration and greater intima-media thickness of the carotid artery. **Journal of Nephrology**. v.19, p.346-351, 2006.

FREDRIKSSON M, BERGSTROM K, ASMAN B. IL-8 and TNF-alpha from peripheral neutrophils and acute-phase proteins in periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**. v.29, p.123-129, 2002.

FREITAS CO et al. Influence of periodontal therapy on C-reactive protein level: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Applied Oral Science**. v.20, p.1-8, 2012.

FRIEDEWALD VE et al. The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology Editors' Consensus: Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. **Journal of Periodontology**. v.80, p.1021-1032, 2009.

FUTTERMAN LG, LEMBERG L. Novel markers in the acute coronary syndrome: BNP, IL-6, PAPP-A. **American Journal of Critical Care**, v.11, n.1, p.168-172, 2002.

GABAY C, KUSHNER I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **New England Journal of Medicine**. v.340, p.448-454, 1999.

GARCIA RI, KRALL EA, VOKONAS PS. Periodontal disease and mortality from all causes in the VA Dental Longitudinal Study. **Annals of Periodontology**. v.3, p.339-349, 1998.

GAUTIER E, JAKUBZICK C, RANDOLPH GJ. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 29, p. 1412-1418, 2009.

GELSKEY SC. Cigarette smoking and periodontitis: methodology to assess the strength of evidence in support of a causal association. **Community Dentistry and Oral Epidemiology** v.27(1), p.16-24, 1999.

GENCO R, OFFENBACHER S, BECK J. Periodontal disease and cardiovascular disease: epidemiology and possible mechanisms. **Journal of the American Dental Association**. v.133 (Suppl.), p.14S-22S, 2002.

GORSKA R, NEDZI-GORA M. The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. **Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis (Warsz)**. v.54, p.419-426, 2006.

GRAU AJ et al. Association between acute cerebrovascular ischemia and recurrent infection. **Stroke**. v.28, p.1724-1729, 1997.

GRAZIANI F et al. Systemic inflammation following non-surgical and surgical periodontal therapy. **Journal of Clinical Periodontology**. v.37, p. 848-854, 2010.

GREEN D et al. Elevated fibrinogen levels and subsequent subclinical atherosclerosis: the CARDIA study. **Atherosclerosis**. v.202; p.623-631, 2009.

GROSSI SG. Effect of estrogen supplementation on periodontal disease. **Compendium of Continuing Education in Dentistry**. Suppl, v.22 p.S30-36, 1998.

GUPTA S. Chronic infection in the aetiology of atherosclerosis – focus on *Chlamydia pneumoniae*. **Atherosclerosis**. v.143, p.1-6, 1999.

HANSSON GK. Inflammation and immune response in atherosclerosis. Current Atherosclerosis. **Current Atherosclerosis Reports**. v.1, p.150-155, 1999.

HANSSON GK. Inflammatory, atherosclerosis and coronary artery disease. **New England Journal of Medicine**. v.352, 1685–1695, 2005.

HARASZTHY VI et al. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. **Journal of Periodontology**. v.71, p.1554-1560, 2000.

HARRISON D et al. Role of oxidative stress in atherosclerosis. **American Journal of Cardiology**, v. 91, p. 7A–11A, 2003.

HAYNES WG, STANFORD C. Periodontal disease and atherosclerosis: from dental to arterial plaque. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v.23, n.8, p.1309-1311, 2003.

HEESCHEN C et al. Serum level of antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patient with acute coronary syndromes. **Circulation**. v.107; p.2109-14; 2003.

HEINECKE JW. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidised low density lipoprotein hypothesis. **Arteriosclerosis**, v. 141, p. 1-15, 1998.

HIGASHI Y et al. Periodontal infection is associated with endothelial dysfunction in healthy subjects and hypertensive patients. **Hypertension**. v.51; p.446-453; 2008.

HODIS HN et al. Reduction in carotid arterial wall thickness using lovastatin and dietary therapy: a randomized controlled clinical trial. **Annals of Internal Medicine**. v.124, p.548-556, 1996.

HODIS HN et al. The Role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. **Annals of Internal Medicine**. v.128, n.4, p.262-269, 1998

HOLVOET P et al. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v.18, p.100-107, 1998.

HOOGEVEEN RC et al. Plasma MCP-1 level and risk for peripheral arterial disease and incident coronary heart disease: Atherosclerosis Risk in Communities study. **Atherosclerosis**. v.183, p.301-307, 2005.

HOPPE B et al. Fibrinogen and factor XIII A-subunit genotypes interactively influence C-reactive protein levels during inflammation. **Annals of the Rheumatic Disease**, 2012 [Epub ahead of print].

HOWELL TH et al. Periodontal disease and risk of subsequent cardiovascular disease in US male physicians. **Journal of the American College of Cardiology**. v.37, p.445-450, 2001.

HUGOSON A et al. Distribution of periodontal disease in a Swedish adult population 1973, 1983 e 1993. **Journal of Clinical Periodontology**. v.25, p.542-548, 1998.

HUJOEL PP et al. Periodontal disease and coronary heart disease risk. **Journal of the American Medical Association**. v.284, p.1406-1410, 2000.

HUJOEL PP et al. Pre-existing cardiovascular disease and periodontitis: a follow up study. **Journal of Dental Research**. v.81, p.186-191, 2002.

HUNTER W. The role of sepsis and antisepsis in medicine. **Lancet**. v.1, p.79-86, 1910.

HWANG SJ et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. **Circulation**. v.96; p. 4219-4225; 1997.



IDE M et al. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. **Journal of Clinical Periodontology**. v.30, p. 334-340, 2003.

INOUE T et al. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease. **International Journal of Cardiology** v.124, p.319-325, 2008.

IOANNIDOU E, MALEKZADEH T, DONGARI-BAGTZOGLU A. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein levels: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Periodontology**. v.77, p.1635-1642, 2006.

IWAMOTO Y et al. The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. **Journal of Periodontology**. v.72, p.774-778, 2001.

IWAMOTO Y et al. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor alpha but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis. **Journal of Periodontology**. v.74, p.1231-1236, 2003.

JANKET S et al. Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**. v.95, p.559-569, 2003.

JENNY NS et al. In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the – 174G>C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v. 22, 2066-71, 2002.

JOHNSON BD et al. Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). **Circulation**. v.109, p.726-732, 2004.

KALLIO KA et al. Lipopolysaccharide associate with pro-atherogenic lipoproteins in periodontitis patients. **Innate Immunity**. v.14, p.247-253, 2008.

KAMIL W et al. Effects on nonsurgical periodontal therapy on C-reactive protein and serum lipids in Jordanian adults with advanced periodontitis. **Journal of Periodontal Research.** v.46; p.616-621, 2011.

KHADER Y, ALBASHAIREH Z, ALOMARI MA. Periodontal diseases and the risk of coronary heart and cerebrovascular diseases: A meta-analysis. **Journal of Periodontology.** v.75, p.1046-1053, 2004.

KIECHL S et al. Chronic infections and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from a large population study. **Circulation.** v.103, p.1064-1070, 2001.

KINANE DF, LOWE GD. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. **Periodontology 2000.** v.23, p.121-6, 2000.

KINLAY S et al. Effect of atorvastatin on risk of recurrent cardiovascular events after an acute coronary syndrome associated with high CD40 ligand in the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) study. **Circulation.** v. 110, p. 386-391, 2004.

KOENIG W. Inflammation and coronary heart disease: an overview. **Cardiology Review.** v.9, p.31-35, 2001.

KOENIG W et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. **Circulation.** v.99, p.237-242, 1999.

KONTUSH A, CHAPMAN MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. **Pharmacological Reviews.** v.58; p.342-374; 2006.

KOSAROV EV et al. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology.** v.25, p.e17-e18, 2005.

KWEIDER M et al. Dental disease, fibrinogen and white cell count: links with myocardial infarction? **Scottish Medical Journal**. v.38, p.73-74, 1993.

LALLA E et al. Effects of periodontal therapy on serum C-reactive protein sE-selectin and tumor necrosis factor $\alpha$  secretion by peripheral blood-derived macrophages in diabetes. A pilot study. **Journal of Periodontal Research**. v.42, p.274-282, 2007.

LALLA E, LAMSTER IB, FEIT M. Blockade of RAGE suppresses periodontitis associated bone loss in diabetics mice. **The Journal of Clinical Investigation**. v.105, n.8, p.1117-1124, 2000.

LALLA E et al. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology** v.23, p.1405-1411, 2003.

LANG N, BARTOLD M, CULLINAN M. Consensus report: aggressive periodontitis. **Annals of Periodontology**. v.4, n.1, p.53, 1999.

LANG N, SOSKOLNE WA, GREENSTEIN G. Consensus report: necrotizing periodontal diseases. **Annals of Periodontology**. v.4, p.78, 1999.

LEINONEN M, SAIKKU P. Evidence for infectious agents in cardiovascular disease and atherosclerosis. **Lancet Infectious Diseases**. v.2, p.11-17, 2002.

LEIVADAROS E et al. A pilot study into measurements of markers of atherosclerosis in periodontitis. **Journal of Periodontology**. v.76; p.121-128, 2005.

LENDERINK T et al. Elevated placental growth factor levels are associated with adverse outcomes at four-year follow-up in patients with acute coronary syndromes. **Journal of the American College of Cardiology**. v.47, p. 307-311, 2006.

LI X et al. Increased levels of circulating endothelial progenitor cells in subjects with moderate to severe chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**. v.36, p.933-939, 2009.

LI J et al. Interferon- $\alpha$  priming promotes lipid uptake and macrophage-derived foam cell formation: A novel link between interferon- $\alpha$  and atherosclerosis in lupus. **Arthritis and Rheumatology**. v.63, n.2, p. 492-502, 2011

LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**. v. 420, p. 868-874, 2002.

LIBBY P et al. Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**. v.25(suppl.2), p.s9-s12, 1995.

LINDEN GJ et al. All cause mortality and periodontitis in 60-70-year-old men: a prospective cohort study. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 39, p.940-946, 2012.

LINDHE J. **Tratado de Periodontia clínica e Implantodontia oral**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.

LINDHE J, RANNEY R, LAMSTER I. Consensus report: chronic periodontitis. **Annals of Periodontology**. v.4, n.1, p.38, 1999.

LINDHE J, RANNEY R, LAMSTER I. Consensus report: periodontitis as a manifestation of systemic diseases. **Annals of Periodontology**. v.4, p.64, 1999.

LOCKART PB et al. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association? A scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**. v.125, p.2520-2544, 2012.

LÖE H, THEILADE E, JENSEN B. Experimental gingivitis in man. **Journal of Periodontology**. v.36, n.3, p.177-187, 1965.

LOOS BG, GRAANDIJK J, HOEK FJ. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. **Journal of Periodontology**. v.71, p.1528-1534, 2000.

LORENZ MW et al. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range; prospective data from the carotid atherosclerosis progression study (CAPS). **Stroke**. v.37, p.87-92, 2006.

LUBOS E et al. Prognostic value of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 for cardiovascular death among patients with cardiovascular disease: results from the AtheroGene study. **European Heart Journal**. v.27, p.150-156, 2006.

LUEPKER RV. Cardiovascular disease: rise, fall, and future prospects. **Annual Review of Public Health**, v. 32, p.1-3, 2011.

LU Q, JIN L. Human gingival is another site of C-reactive protein formation. **Journal of Clinical Periodontology**. v.37; p.789-796, 2010.

MAAT MP, KLUFT C. Determinants of C-reactive protein concentration in blood. **Italian Heart Journal**. v.2, p.189-195, 2001.

MACKENZIE RS, MILLARD HD. Interrelated effects of diabetes, arteriosclerosis and calculus on alveolar bone loss. **Journal of American Dental Association**. v.66, p.192-198, 1963.

MACKESY DZ, GOALSTONE ML. Insulin augments tumor necrosis factor-alpha stimulated expression of vascular cell adhesion molecule-1 in vascular endothelial cells. **Journal of Inflammation**. v.17, n.1, p.8:34, 2011.

MADJID M et al. Leukocyte count and coronary heart disease: implications for risk assessment. **Journal of the American College of Cardiology**. v.44, p. 1945-1956, 2004.

MALDONADO G, GREENLAND S. Simulation study of confounder-selection strategies. **American Journal of Epidemiology**. Dec 1; 138 (11), p.923-36, 1993.

MALONE D et al. Total cytokine immunoassay: a more accurate method of cytokine measurement? **Journal of Trauma**. v.50, p.821-825, 2001.

MARCACCINI AM et al. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. **Journal of Periodontology**. v.80, p. 594-602, 2009.

MATTILA KJ, NIEMINEN MS, VALTONEN VV. Association between dental health and acute myocardial infarction. **British Medical Journal**. v.298, n.6676, p.779-781, 1989.

MATTILA KJ et al. Effect of treating periodontitis on C reactive protein levels: a pilot study. **BMC Infectious Diseases**. v. 2, p.30, 2002.

MENDALL MA, PATEL P, ASANTE M. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. **Heart**. v.78, p.273-277, 1997.

MENDALL MA et al. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. **British Medical Journal**. v.312, p.1061-1065, 1996.

MERCANOGLU F et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic periodontitis and its improvement after initial periodontal therapy. **Journal of Periodontology**. v.75, p.1694-1700, 2004.

MEUWESE MC et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPICNorfolk Prospective Population study. **Journal of the American College of Cardiology**. V.50, p. 159-165, 2007.

MICHALOWICZ BS, AEPPLI D, VIRAG JG. Periodontal findings in adult twins. **Journal of Periodontology** v.62, p.293-299, 1991.

MICHALOWICZ BS, DIEHL SR, GUNSOLLEY JC. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. **Journal of Periodontology**. v.71,n.11, p.1699-707, 2000.

MILLER WD. The human mouth as a focus of infection. **Dental Cosmos**. v.33, p.689-713, 1891.

MIRE-SLUIS AR, GAINES-DAS R, THORPE R. Immunoassays for detecting cytokines: what are they really measuring? **Journal of Immunological Methods**. v.186, p.157-160, 1995.

MONTEBUGNOLI L et al. Periodontal health improves systemic inflammatory and haemostatic status in subjects with coronary heart disease. **Journal of Clinical Periodontology**. v.32, p.188-192, 2005.

MUSTAPHA IZ et al. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Periodontology**. v.78, p.2289-2302, 2007.

NABEL EG. Cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**. v. 349, p.60-72, 2003.

NAPOLI C DAF, MANCINI FP. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and its greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia: intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. **The Journal of Clinical Investigation**. v.100, p.2680-2690, 1997.

NATALI A, L'ABBATE A, FERRANNINI E. Erythrocyte sedimentation rate, coronary atherosclerosis, and cardiac mortality. **European Heart Journal**. v.24, p.639-648, 2003.

NG HP, BURRIS RL, NAGARAJAN S. Attenuated atherosclerotic lesions in apoE-Fc $\gamma$ -chain-deficient hyperlipidemic mouse model is associated with inhibition of Th17 cells and promotion of regulatory T cells. **Journal of Immunology**, v.187, n.11, p.6082-6093, 2011.

NOACK B et al. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. **Journal of Periodontology**. v.72, p.1221-1227, 2001.

NUMM ME. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. **Periodontology 2000. Review**. v.32, p.11-23, 2003.

OCKENE IS, MILLER NH. Cigarette smoking, cardiovascular disease, and stroke: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association Task Force on Risk Reduction. **Circulation**. v.96, p.3243-3247, 1997.

OFFENBACHER S. Periodontal diseases: pathogenesis. **Annals of Periodontology**. v.1, p.821-878, 1996.

O'LEARY DH, POLAK JF, KRONMAL RA. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. **Stroke**. v.23, p.1752-60, 1992.

O'LEARY DH et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. **New England Journal of Medicine**. v.340, n.1, p.14-22, 1999.

O'LEARY DH et al. Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. **Stroke**. v.27; p.224-231; 1996.

O'LEARY DH et al. Carotid-artery intima-media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. **New England of Journal of Medicine**. v.340, n.1, p.14-22, 1999.

O'LEARY DH, POLAK JF, KRONMAL RA. Thickening of the carotid wall: a marker for atherosclerosis in the elderly? **Stroke**. v.27, p.224-31, 1996.



O'LEARY DH, POLAK JF, WOLFSON SK. JR. Use of sonography to evaluate carotid atherosclerosis in the elderly: Cardiovascular health study. **Stroke**. v.22, p.1155-63, 1991.

OLIVER RC, BROWN LJ, LÖE H. Periodontal diseases in the United States population. **Journal of Periodontology**. v.69, p.269-278, 1998.

OLIVER RC, BROWN LJ, LÖE H. Variations in the prevalence and extent of periodontitis. **Journal of the American Dental Association**. v.122, p.43-48, 1991.

OLSON NC et al. Circulating Levels of TNF- $\alpha$  Are Associated with Impaired Glucose Tolerance, Increased Insulin Resistance, and Ethnicity: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.97, n.3, p.1032-1040, 2012.

O'REILLY PG, CLAFEY NM. A history of oral sepsis as a course of disease. **Periodontology 2000**. v.23, p.13-18, 2000.

PACKARD RR, LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. **Clinical Chemistry**. v.54, p 24-38, 2008.

PAI JK, PISCHON T, MA J. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. **New England Journal of Medicine**. v.351, p. 2589-2610, 2004.

PAPAPANOU PN, LINDHE J, STERETT JD. Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support. **Journal Clinical Periodontology**. v.18, n.8, p.611-615, 1991.

PAPAPANOU PN. Periodontal diseases: epidemiology. **Annals Periodontology**. v.1, p.1-36, 1996.

PAPAPANOU PN. Periodontal therapy alters gene expression on peripheral blood monocytes. **Journal Clinical Periodontology**. v.34, p.736-747, 2007.

PAQUETTE DW, BRODALA N, NICHOLS TC. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection. **Periodontology** 2000. v.44, p.113-126, 2007.

PARASKEVAS S, HUIZINGA JD, LOOS BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**. v.35, p.277-290, 2008.

PARK S, LAKATTA EG. Role of inflammation in the pathogenesis of arterial stiffness. **Yonsei Medical Journal**, v.53, n.2, p.258-261, 2012.

PASCERI V, WILLERSON JT, YEH ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**. v.102; p.2165-2168, 2000.

PAUNIO K et al. Missing teeth and ischaemic heart disease in men aged 45-64. **European Heart Journal**. v.14(suppl K), p.54-56, 1993

PEARSON TA et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation**. v.107, p. 499-511, 2003.

PESTKA S et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. **Annual Review of Immunology**. v.22, p.929-79, 2004.

PHILSTROM BL, MICHALOWICZ BS, JOHSON NW. Periodontal diseases. **Lancet**. v.366, p.1809-1820, 2005.

PICCHI A et al. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. **Circulation Research**. v.99, p.69-77, 2006.

PICONI S et al. Treatment of periodontal disease results in improvements in endothelial dysfunction and reduction of the carotid intima-media thickness. **FASEB Journal**. v.23; p.1196-1204, 2009.

PISCHON N et al. P. Influence of periodontal therapy on the regulation of soluble cell adhesion molecule expression in aggressive periodontitis patients. **Journal of Periodontology**. v.78, p.683-690, 2007.

PUSSINEN PJ et al. Antibodies to periodontal pathogens and stroke risk. **Stroke**. v.35, p.2020-2023, 2004

PUSSINEN PJ et al. Antibodies to periodontal pathogens are associated with coronary heart disease. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v.23, p.1250-1254, 2003.

RECKLESS J et al. Monocyte chemoattractant protein-1 but not tumor necrosis factor-alpha is correlated with monocyte infiltration in mouse lipid lesions. **Circulation**. v.99, p.2310-2316, 1999.

REINER Z et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). **European Heart Journal** v.32, p.1769–1818, 2011.

REYES L et al. Periodontal bacterial invasion and infection: Contribution to cardiovascular disease. **Journal of Clinical Periodontology**. v.40 (Suppl. 14), p.30-50, 2013.

RIDKER PM et al. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. **Circulation**. v.98, p.731-733, 1998.

RIDKER PM et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. **New England Journal of Medicine**. v.336, p. 973-979, 1997.

RIDKER PM et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. **New England Journal of Medicine**. v.359, p.2195-2207, 2008.

RIDKER PM, GLYN RJ, HENNEKENS CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. **Circulation**. v.97, p.2007-2011, 1998.

RIDKER PM et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **New England Journal of Medicine**. v.342, p.836-843, 2000.

RIDKER PM et al. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. **Circulation**. v.100, p.230-5, 1999

RIDKER PM et al. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increase risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. **Circulation**, v.101, n.1, 2149-2153, 2000.

ROCHA VZ, LIBBY P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. **Nature Reviews Cardiology**, v. 6, 399-409, 2009.

ROSS R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature**. v.362, p.801-809, 1993.

ROSS R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. **New England Journal of Medicine**. v.340, p.115-126, 1999.

ROSS R. Cell biology of atherosclerosis. **Annual Review of Physiology**. v.57, p.791-804, 1995.

SANZ M, QUIRYNEN M. European Workshop in Periodontology Group A. Advances in the aetiology of periodontitis. Group A: consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. **Journal of Clinical Periodontology**. v.32, Suppl.6, p.54-56, 2005.

SAREN P, WELGUS HG, KOVANEN PT. TNF-alpha and IL-1beta selectively induce expression of 92-kDa gelatinase by human macrophages. **Journal of Immunology**. v.157, p.4159-4165, 1996.

SCHILLINGER T et al. Dental and periodontal status and risk for progression of carotid atherosclerosis. **Stroke**. V. 37, 2271–2276, 2006.

SEISNOT G et al. Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis. **American Heart Journal**. v.149, p.1050-1054, 2005.

SCANNAPIECO FA, BUSH RB, PAJU S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. **Annals of Periodontology**. v.8, p.38-53, 2003.

SCHACHINGER V, BRITTEN MB, ZEIHNER AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. **Circulation**. v.101, p.1899-1906, 2000.

SCHENKEIN HA, LOOS BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. **Journal of Clinical Periodontology**. v.40 (suppl.14), p.51-69, 2013.

SHAH PK. Chronic infections and atherosclerosis thrombosis. **Current Atherosclerosis Report**. v.4, p.113-119, 2002.

SIMONKA M, SKALERIC U, HOJS D. Condition of teeth and periodontal tissue in patients who had suffered a heart attack (in Croatian). **Zobozdravstveni Vestnik**. v.43, p.81-83, 1988.

SKÅLÉN K. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. **Nature**, v.13, n.417, p.750-754, 2002

SMEETH L et al. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. **New England Journal of Medicine**. v.351, p.2611-2618, 2004.

SMITH DA et al. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. **Circulation**. v.104, p.746-749, 2001.

SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. **Periodontol**. 2000. v.5, p.7-25, 1994.

STARY HC, GLAGOV S. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. **Circulation**. v.89, p.2462-2478, 1994.

STELZEL M et al. Detection of *Porphyromonas gingivalis* DNA in aortic tissue by PCR. **Journal of Periodontology**. v.73, p.868–870, 2002.

STONE AF et al. Effect of treatment for *Chlamidia pneumonia* and *Helicobacter pylori* on markers of inflammation and cardiac events in patients with acute coronary syndromes: South Thames Trials of Antibiotics in Myocardial Infarction and Unstable Angina (STAMINA). **Circulation**. v.106, p. 1219-1223, 2002.

SUN WL et al. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal intervention in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. **Internal Medicine**. v.50, p.1569-1574, 2011.

SUSIN C, OPPERMAN RV, HAUGEJORDEN O. Periodontal attachment loss attributable to cigarette smoking in an urban Brazilian population. **Journal of Clinical Periodontology**. v.31, p. 951-959, 2004.

TALAYERO BG, SACKS FM. The role of triglycerides in atherosclerosis. **Current Cardiology Reports**. v.13, p.544-552, 2011.

TAYLOR B et al. The effect of initial treatment of periodontitis on systemic markers of inflammation and cardiovascular risk: a randomized controlled trial. **European Journal of Oral Sciences**. v.118, p. 350-356, 2010.

TAYLOR GW. Periodontal treatment and its effects on glycemic control: a review of the evidence. **Oral Surgury Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics.** v.87, n.3, p.311-316, 1999.

THORSTENSSON H, JOHANSSON B. Does oral health say anything about survival in later life? Findings in a Swedish cohort of 80+ years at baseline. **Community Dentistry and Oral Epidemiology.** v.37, p.325-332, 2009.

TONETTI MS et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. **New England Journal of Medicine.** v.356, p.911-920, 2007.

TONETTI MS, VAN DYKE TE. and behalf of working group 1 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **Journal of Peridontology.** v.84 (4Suppl.), p.S24-S29, 2013.

TOSS H et al. Prognostic influence of increased fibrinogen an C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. **Circulation.** v.96, p.4204-4210, 1997.

TOUBOL PJ et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness Consensus (2004-2006). **Cerebrovascular Diseases.** v.23, p.75-80, 2007.

TOUBOL PJ et al. Mannheim carotid intimamedia thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> watching the risk symposia, at the 13<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> European stroke conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. **Cerebrovascular Diseases.** v.34; p.290-296, 2012.

TUCKER S et al. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology.** v.23, p.1405-1411, 2003.

TUOMISTO K et al. C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha as predictors of incident coronary and cardiovascular events and total mortality. A population-based, prospective study. **Thrombosis and Haemostasis**. v.95, p.511-518, 2006.

TUTER G et al. Effects of scaling and root planing and sub-antimicrobial dose doxycycline on oral and systemic biomarkers of disease in patients with both chronic periodontitis and coronary artery disease. **Journal of Clinical Periodontology**. v.34, p.673-681, 2007.

VALTONEN VV. Infection as a risk factor for infarction and atherosclerosis. **Annals of Medicine**.v.23, p.539-543,1991.

VAN DYKE TE, SHEILESH D. Risk factors for periodontitis. **Journal of the International Academy of Periodontology**. v.7, p.3-7, 2005.

VIDAL F et al. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. **Journal of Periodontology**. v.80, p.786-791, 2009.

VIEIRA CL et al. Severe periodontitis is associated with diastolic blood pressure elevation in individuals with heterozygous familial hypercholesterolemia: a pilot study. **Journal of Periodontology**. v.81, p. 683-688, 2011.

WAEHERE T et al. Increased expression of interleukin-1 in coronary artery disease with downregulatory effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **Circulation**. v.109, p.1966-1972, 2004.

WIDLANSKY ME. The clinical implications of endothelial dysfunction. **Journal of The American College of Cardiology**. v.42, n.7, p.1149-1160, 2003.

WILLERSON JT, RIDKER PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. **Circulation**. v.109, p.II2-II10, 2004.



WILLIAMS RC. Understanding and managing periodontal diseases: a notable past, a promising future. **Journal of Periodontology**. v.79, p.1552-1559, 2008.

WILSON PW et al. C-reactive protein and risk of cardiovascular disease in men and women from the Framingham Heart Study. **Archives of Internal Medicine**. v.165, p.2473-2478, 2005.

WOLBERG AS, MACKMAN N. Venous thromboembolism: risk factors, biomarkers, and treatment. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 29, p. 296-297, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The World Health Report 2009. Geneva: **World Health Organization**, 2009.

WU R, LEFVERT, AK. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein (OxLDL): characterization of antibody isotype, subclass, affinity and effect on the macrophage uptake of oxLDL. **Clinical and Experimental Immunology**. v.102, p.174-180, 1995.

XU YL et al. Increased plasma C-reactive protein level predicts rapid progression of non-target atherosclerotic lesions in patients with stable angina after stenting. **Chinese Medical Journal**, v.124, n.19, p.3022-3029, 2011.

YAMAGAMI H et al. Higher levels of interleukin-6 are associated with lower echogenicity of carotid artery plaques. **Stroke**. v.35, p.677-81, 2004.

ZHAO B et al. Effect of interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor-alpha on gene expression in human endothelial cells. **American Journal of Physiology – Cell Physiology**. v.284, p.C1577-C1583, 20

### APÊNDICE A – Ficha de anamnese dos pacientes

<b>Número:</b> _____		<b>Nome:</b>			
<b>Data:</b>					
Idade		Peso	Altrura	IMC	Cor
Endereço					
Situação Sócio Econômica					
Nível Educacional					
Atividade Ocupacional					
Fuma?	( ) Sim	( ) Não	Quantos cigarros/dia?		Qto tempo fuma?
Ex-Fuma?	( ) Sim	( ) Não	Quantos cigarros/dia?		Qto tempo largou?
Quanto tempo fumou?					
Bebidas Alcoólicas?		Tipo?		Frequência?	
Drogas Ilícitas?		Qual?		Frequência?	
Já foi ao dentista?		Quando?		Trat. Periodontal?	
Histórico Odontológico: Frequência?					
Como é sua higiene oral?		( ) Excelente ( ) Muito Boa ( ) Boa ( ) Ruim ou Um pouco Boa ( ) Péssima			
Instrumentos?		( ) Escovas; Quais? ( ) Com pasta dentária ( ) Fio Dental ( ) Bochechos; Qual? ( ) Outros: _____			
Você tem mau hálito?					
Já foi ao Cardiologista?		Quando?		Trat. Cardiológico?	
Histórico Médico: Frequência?					
Está sob Tratamento Médico?		Qual?			
Toma alguma medicação?		Qual? Para que? Dosagens?			
Possui Diabetes?					
Possui Hipertensão?					
Possui Stenting? Quantos?		Normais ou Farmacológicos?			
Já sofreu infarte ou AVC?					

**APÊNDICE B – Ficha clínica periodontal dos pacientes**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA N°**

**NOME DO PACIENTE:** \_\_\_\_\_

**DATA:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Dente		18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
PS + SS	VD																
	V																
	VM																
	LM																
	L																
	LD																
NI	VD																
	V																
	VM																
	LM																
	L																
	LD																
Dente		48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
PS + SS	VD																
	V																
	VM																
	LM																
	L																
	LD																
NI	VD																
	V																
	VM																
	LM																
	L																
	LD																

FURCA?

MOBILIDADE?

**ANEXO A** – Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO DE JANEIRO  
PROJETO DE CAMPO UERJ

Prezado Sr(a) e Responsável,

A Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) está realizando um trabalho de pesquisa com o título “Efeitos da Terapia Periodontal na Função Endotelial e na Expressão de Marcadores Inflamatórios Sistêmicos”. Este trabalho conta com a participação de pacientes que buscam atendimento médico e odontológico e que se enquadram nos critérios de seleção do projeto de pesquisa.

O objetivo principal é avaliar a saúde periodontal e tratar os pacientes quando a periodontite estiver instalada, analisando marcadores inflamatórios sanguíneos que podem ser prejudiciais na saúde cardiovascular. Não haverá nenhum prejuízo para você.

A pesquisa irá envolver várias etapas:

1) Será realizado uma entrevista com perguntas pelo pesquisador pelo qual você poderá omitir alguma resposta que quiser;

2) Após respondidas as perguntas, será realizado um exame de saúde bucal por um dentista pesquisador responsável. O exame é feito rapidamente sem nenhum procedimento invasivo ou anestesia, somente será realizado uma sondagem da gengiva com um instrumento metálico e com ponta redonda, sem dor ou desconforto;

3) Será feito o tratamento periodontal, quando instalada a doença, em várias consultas em consultório odontológico com periodontista. As sessões envolvem limpeza, raspagem radicular com anestesia e se necessário, exodontias;

4) Serão feitos exames laboratoriais, de ultrassonografia e radiográficos odontológicos antes e após terapia periodontal, para a aquisição de dados importantes na pesquisa.

A participação na pesquisa não apresentará custo nenhum para você. Os dados coletados serão analisados e apresentados pelos pesquisadores, por isso pedimos sua autorização para publicação dos dados estatísticos sem que sua identidade seja revelada. Os dados serão confidenciais e terão acesso aos mesmos somente os pesquisadores deste projeto. Os nomes dos participantes não serão revelados.

Os pesquisadores envolvidos no projeto garantem a você o direito a qualquer pergunta e/ou esclarecimentos mais específicos dos procedimentos realizados e/ou interpretações dos resultados obtidos dos exames.

Informamos, também, que em qualquer momento, você terá a liberdade de interromper a sua participação no estudo, sem que isto traga algum risco, prejuízo ou desconforto para você. Caso o participante voluntário desista de participar deste trabalho, mesmo após os dados terem sido coletados, o pesquisador responsável (Lisiane Castagna tel: 55 30271137) se compromete a não utilizá-los.

#### EQUIPE UERJ

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) da CI \_\_\_\_\_ fui informado (a) dos objetivos e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações sobre o procedimento no qual estarei envolvido (a). Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Desta forma, aceito participar.

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

Testemunhas: \_\_\_\_\_

Pesquisador responsável: \_\_\_\_\_

Autorizo a publicação dos dados, sem minha identificação:

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

**ANEXO B - Aprovação do comitê de ética em pesquisa**

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



Rio de Janeiro, 15 de Dezembro de 2010

Do: Comitê de Ética em Pesquisa  
Prof.: Wille Oigman  
Para: Aut. Lisiane Castagna – Orient. Prof. Eduardo M. B. Tinoco

Registro CEP/HUPE: 2796/2010 (este número deverá ser citado nas correspondências referentes ao projeto)  
CAAE: 0241.0.228.000-10

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "EFEITOS DA TERAPIA PERIODONTAL NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E NA EXPRESSÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS SISTÊMICOS" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Prof. Wille Oigman  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
HUPE/UERJ**

CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
AV. VINTE E OITO DE SETEMBRO, 77 TÉRREO - VILA ISABEL - CEP 20551-030  
TEL: 21 2587-6353 – FAX: 21 2264-0853 - E-mail: cep-hupe@uerj.br

ANEXO C – Texto informativo para os pacientes voluntários da pesquisa.

**CARDIOLOGIA E ODONTOLOGIA**

**- vagas para pacientes com Doença Periodontal -**

Este texto elucidada o leitor leigo, a relação entre os problemas bucais e os sistêmicos, e explica a importância da Odontologia inserida no meio médico, em especial a Cardiologia. Muitos estudos científicos vem sendo realizados com a intenção de explicar os problemas bucais associados com problemas sistêmicos, tais como, vasculares, cardíacos, metabólicos, respiratórios, prematuridade, baixo peso ao nascer, e outras. Esse conhecimento abriu uma grande área da Odontologia de interesse aos médicos, dentistas e pacientes que denomina-se MEDICINA PERIODONTAL.

É de competência do dentista e médico compreender a importância da saúde bucal para a saúde sistêmica e vice-versa. Os profissionais que entendem esta relação apresentam-se atualizados cientificamente no que vem sendo muito pesquisado nos últimos anos.

A doença do PERIODONTO (que é o tecido que envolve os dentes, como a gengiva, osso etc) pode ser discreta e silenciosa ao paciente que não conhece e não frequenta o dentista regularmente, assim poderá envolver acesso às bactérias bucais para o sangue circulante e também produzir reações imunológicas prejudiciais aos outros órgãos e tecidos do indivíduo, além de causar a perda dentária.

Dentro desta visão atualizada, justifica-se a execução de um PROJETO DE PESQUISA que aborda este Tema, desta forma contribuindo com a comunidade científica.

**Os autores do projeto intitulado “EFEITOS DA TERAPIA PERIODONTAL NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E NA EXPRESSÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS SISTÊMICOS” estão selecionando pacientes que possuem Doença Periodontal em grau mais avançado, que possuem no mínimo 13 dentes e que situam-se na faixa etária de 40 a 65 anos. Os pacientes que participarem voluntariamente terão acesso ao TRATAMENTO PERIODONTAL ESPECIALIZADO GRATUITO, além de exames de sangue e cardiológicos gratuitos.**

**Os candidatos voluntários que querem participar e tem dúvidas sobre o trabalho, por favor entrar em contato pelo telefone (55) 30271137 (Clínica Ecelenza de Peridontia). As vagas são limitadas.**

**Equipe UERJ**

**– Doutorado em Periodontia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro**