

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
NÍVEL DOUTORADO  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA-  
PERIODONTIA**

**Tese de Doutorado**

**CONDIÇÃO PERIODONTAL COMO FATOR DE  
PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM DOENÇA  
ARTERIAL CORONARIANA CRÔNICA:  
ÊNFASE EM CITOCINAS SISTÊMICAS**

**Linha de Pesquisa:** Epidemiologia, Etiopatogenia e Repercussão  
das Doenças da Cavidade Bucal e Estruturas Anexas

**Cassio Kampits**

**Porto Alegre, RS, Brasil**

**2014**

**CONDIÇÃO PERIODONTAL COMO FATOR DE PROGNÓSTICO  
EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA  
CRÔNICA: ÊNFASE EM CITOCINAS SISTÊMICAS**

**por**

**Cassio Kampits**

**Tese de Doutorado a ser apreciado pelo Programa de  
Pós-Graduação em Odontologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).**

**Orientador: Prof. Dr. Alex Nogueira Haas**

**Porto Alegre, RS, Brasil**

**2014**

## CIP - Catalogação na Publicação

kampits, Cassio

CONDIÇÃO PERIODONTAL COMO FATOR DE PROGNÓSTICO EM  
PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA CRÔNICA:  
ÊNFASE EM CITOCINAS SISTÊMICAS / Cassio kampits. --  
2014.

60 f.

Orientador: Alex Haas.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de  
Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,  
2014.

1. Doença Periodontal. 2. Periodontite. 3. Doença  
Cardiovascular. 4. Citocinas. 5. Interleucinas. I.  
Haas, Alex, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## AGRADECIMENTOS

No final de 2010, escrevi um e-mail para o professor Cassiano Rosing perguntando como era o procedimento para a entrada no programa de Doutorado em Periodontia, por fim, o professor Cassiano marcou uma data para que eu pudesse conhecer a UFRGS. Extremamente atencioso e prestativo, bem ao contrário das suposições que havia escutado, me fez optar pela entrada no programa de Doutorado da UFRGS. Naquele momento eu estava certo que o grupo de Periodontia da UFRGS iria completar as minhas lacunas na área do conhecimento.

Ao ingressar no programa sou apresentado ao meu orientador Alex Haas, o que naquele momento me causou estranheza, pois ficara sabendo que eu iria ser o seu primeiro doutorando, pois bem, a minha admiração pela sua competência, a qualidade das suas aulas e sem dúvida a sua parceria nesses 4 anos de doutorado fez com que o meu respeito por ele só aumentasse. Hoje tenho convicção que eu tive o melhor orientador que um doutorando poderia ter, desde já, deixo o meu enorme agradecimento pela sua contribuição nessa árdua caminhada, serás sempre lembrado.

O trabalho para chegar a Tese de doutorado não se faz sozinho e pude contar com muitas ajudas, que sou muito grato. Aos bolsistas Bruno Kauer e Jasper Schulz. E as contribuições, apoio e parceria incondicional dos meus queridos colegas de Doutorado, Marlon Munhoz, Ingrid Sanada e Marco Saffi.

Agradeço também ao apoio financeiro da Capes pela concessão de bolsa para auxiliar durante o curso do doutorado.

Agradeço aos meus pais, que contribuíram e me apoiaram incondicionalmente na minha busca pelo conhecimento, a minha noiva Cristina Franke pelo apoio prestado durante o doutorado e entendimento que as ausências sempre foram por um bem maior.

Agradeço a UFRGS que me amparou e deu a estrutura necessária para a conclusão do doutorado.

## **LISTA DE ANEXOS**

ANEXO 1- CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ANEXO 3 – ENTREVISTA

ANEXO 4 – FICHA PERIODONTAL

<b>RESUMO</b> .....	<b>6</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>7</b>
<b>1 - APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2 - REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Doenças Cardiovasculares</b> .....	<b>9</b>
2.1.1 Placa Ateromatosa .....	9
<b>2.2 Periodontite</b> .....	<b>12</b>
<b>2.3 Mecanismos plausíveis da inter-relação entre a doença periodontal e a doença cardiovascular</b> .....	<b>13</b>
2.3.1 Mecanismos indiretos.....	13
2.3.2 Mecanismos diretos.....	13
<b>2.4 Citocinas</b> .....	<b>15</b>
2.4.1 Interleucina-6.....	18
2.4.2 Interleucina-1 $\beta$ .....	19
2.4.3 Interleucina-8.....	19
2.4.4 Interleucina-10.....	20
2.4.5 Interferon- $\gamma$ .....	21
2.4.6 Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ .....	21
<b>2.5 Fatores de risco e prognóstico</b> .....	<b>22</b>
<b>2.6 Evidências da associação inflamatória entre doença periodontal e cardiovascular</b> .....	<b>23</b>
2.6.1 Doença Periodontal em pacientes cardiopatas.....	24
<b>3 - ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>33</b>
<b>4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>54</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>61</b>

## RESUMO

A doença periodontal é um processo inflamatório crônico local em resposta ao acúmulo de biofilme bacteriano; porém, nas últimas décadas tem-se observado uma atenção maior aos efeitos sistêmicos da mesma. Estes efeitos sistêmicos podem acarretar em um aumento no risco à doença cardiovascular. As citocinas, as quais são produzidas pela resposta imunológica do hospedeiro, podem ser importantes marcadores da doença periodontal e das doenças cardiovasculares. Este estudo objetivou avaliar a associação entre condição periodontal e citocinas sanguíneas em pacientes com doença arterial coronariana crônica. Foi realizado um estudo observacional transversal no qual foram incluídos 89 pacientes com doença arterial coronariana que estavam sob cuidados cardiovasculares por no mínimo 6 meses. Amostras sanguíneas foram coletadas para mensuração dos níveis sistêmicos das citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  através da plataforma Multiplex. Foram realizados exames periodontais (seis sítios por dente em toda a boca) para registro da profundidade de sondagem (PS) e perda de inserção (PI). Modelos de regressão linear múltipla ajustado para gênero, índice de massa corporal e fumo foram usados para associação entre diversos parâmetros clínicos periodontais e níveis sistêmicos das citocinas individualmente. Observamos associação entre PS e PI com IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-10. Número de dentes com PI e PS  $\geq$ 6mm foram significativamente associados com maiores concentrações de IFN- $\gamma$ . Média de PI e PS foram significativamente relacionadas com IL-10. Concentrações mais elevadas de TNF- $\alpha$  foram associadas com a média de PI. Pode-se concluir que pior condição periodontal é associada com maiores níveis de inflamação sistêmica em pacientes cardiopatas. Estes achados provêm adicional evidência para suportar a doença periodontal como um provável fator de prognóstico em pacientes cardiopatas crônicos.

Palavras chave: doença periodontal, periodontite, doença cardiovascular, citocinas, interleucinas

## ABSTRACT

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease resulting from dental biofilm deposition. However, in recent decades it has been observed an increased attention to the systemic effects of periodontal inflammation and destruction. This systemic effect could be associated to increased risk for cardiovascular diseases. Cytokines, which are produced by the host response, could be important predictors in periodontal disease and cardiovascular disease. The aim of this study was to assess the association between periodontal disease and low-grade inflammatory blood markers in stable coronary artery disease (CAD) patients. 89 patients under cardiovascular care for at least 6 months were included in this cross-sectional study. Blood levels of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  were measured using the Multiplex technology. A full-mouth six sites per tooth periodontal examination was conducted to record probing depth (PD) and clinical attachment loss (CA loss). Multiple linear regression models adjusting for gender, body mass index and smoking were used to study the association between periodontal status and log levels of cytokines. Significant associations between periodontal parameters and IFN- $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$  were observed. Higher numbers of teeth with CA loss and PD  $\geq$ 6 mm were significantly associated with higher concentrations of IFN- $\gamma$ . Mean CA loss and PD were significantly related to IL-10. Elevated concentrations of TNF- $\alpha$  were associated with higher mean CA loss. It can be concluded that periodontal disease is associated with increased systemic inflammation in cardiovascular patients. These findings provide additional evidence for supporting periodontal disease as a prognostic factor in cardiovascular patients.

Key Words: periodontal disease, periodontitis, cardiovascular disease, cytokine, interleukin.



## 1 - APRESENTAÇÃO

A presente tese aborda citocinas sistêmicas que são fatores de risco sub-rogados a desfechos cardiovasculares. Tem-se demonstrado na literatura que os níveis sanguíneos dessas citocinas podem ser alterados pela periodontite. Dessa forma, a periodontite poderia vir a funcionar como um fator de prognóstico em pacientes já com doença cardiovascular estabelecida. Afim de abordar o tema amplamente, esta tese tem o objetivo de:

1. Abordar a literatura referente à alteração de citocinas sistêmicas e sua associação com eventos cardiovasculares e doença periodontal.
2. Apresentar um estudo transversal da associação entre condição periodontal e citocinas sistêmicas em pacientes com doença arterial coronariana crônica (DAC).

Para isso, a tese é apresentada em três capítulos.

Na “Revisão de literatura” o tema foi abordado tendo como eixo central estudos sobre citocinas em pacientes com doenças cardiovasculares e periodontite. A literatura foi buscada a partir da base de dados do Medline, considerando neste eixo estudos recentemente publicados a partir do ano de 2000, a fim de manter o foco da discussão nos dados mais atuais.

A seguir, um “artigo científico” ainda não submetido para publicação é apresentado no formato da revista *Journal of Periodontology*. Neste manuscrito, um estudo transversal é descrito com 89 pacientes com doença arterial coronariana crônica (DAC) em acompanhamento no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Por fim, os achados centrais do estudo são comparados com a literatura no capítulo de “Considerações finais” da tese.

## **2 - REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Doenças Cardiovasculares**

A doença cardiovascular, incluindo infarto agudo do miocárdio e angina pectoris, é o maior problema de saúde pública em países desenvolvidos (Dhadse et al., 2010). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, a cada ano 17,3 milhões de indivíduos morrem em todo o mundo vítimas de doenças cardiovasculares e 78,5% das mortes vêm de países subdesenvolvidos. O Brasil, especificamente, está passando por uma fase transicional, onde ocorre uma diminuição das doenças degenerativas, infecciosas e um aumento das doenças coronarianas como hipertensão, derrame e cardiomiopatia hipertensiva, em muitas regiões do país (Piegas et al. 2003).

As enfermidades do sistema circulatório dividem-se em dez categorias de acordo com a classificação internacional de doenças, sendo elas: febres reumáticas agudas; doenças cardíacas reumáticas crônicas; doenças hipertensivas; doenças isquêmicas do coração; doenças cardíacas pulmonares e da circulação pulmonar; outras formas de doenças do coração; doenças cerebrovasculares, doenças das artérias, arteríolas e capilares; doenças das veias, vasos e gânglios linfáticos e ainda outros transtornos não especificados do sistema circulatório (Cid-10). Na categoria das doenças das artérias, arteríolas e capilares encontramos a aterosclerose ou doença arterial coronariana, que é uma inflamação crônica na qual ocorre a formação de ateromas dentro dos vasos sanguíneos.

#### **2.1.1 Placa Ateromatosa**

Em meados do século XIX foi descrita pela primeira vez a contribuição da inflamação para a aterosclerose e reportado que a aterosclerose apresentava evidências de inflamação celular nos vasos sanguíneos (Iwata e Nagai, 2012). Este conceito foi expandido por Ross e Glomset (1973), que

demonstraram que a infiltração de monócitos e macrófagos na lesão subepitelial na parede da artéria seria o início da aterosclerose.

A aterosclerose é uma doença progressiva inflamatória (Dhadse et al., 2010) caracterizada pelo acúmulo de elementos fibrosos e lipídicos (Libby, 2002), em particular o colesterol lipoproteico de baixa densidade (LDL) que é um dos principais fatores de risco para a aterosclerose (Ross, 1999). As partículas de LDL depositadas nas artérias com conseqüente oxidação e formação da LDLox são citotóxicas para as células endoteliais resultando em lesões (Groyer et al. 2006). A lesão aterosclerótica acontece principalmente nas artérias musculares e elásticas de médio e grande porte, podendo levar à isquemia no coração, resultando em infarto agudo do miocárdio.

O início da lesão aterosclerótica se dá pelo acúmulo de lipoproteínas na camada íntima da artéria afetada. As partículas de lipoproteína, como as lipoproteínas de baixa densidade, permitem o acúmulo de monócitos e linfócitos na camada íntima (Dhadse et al., 2010). Nas primeiras fases de formação da placa aterosclerótica os leucócitos e células T se aderem ao endotélio vascular. As moléculas de adesão facilitam o recrutamento e a adesão nos sítios inflamados, as selectinas (E-Selectina e P-Selectina) medeiam a passagem de leucócitos através do endotélio, enquanto a molécula de adesão intercelular (ICAM-1) e a molécula de adesão vascular (VCAM-1) medeiam a adesão ao endotélio (Lowe, 2001). Segundo Libby (2002), as VCAMs se ligam a dois tipos celulares encontrados no início da placa ateromatosa: monócitos e linfócitos T.

Partículas de LDLox são quimiotáticas para monócitos, por meio da regulação da expressão dos genes para citocinas como, fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) e a proteína quimiotática de monócito (CCL2/MCP-1), as quais são derivadas de células endoteliais (Leonard e Yoshimura, 1990). Esse processo pode expandir a resposta inflamatória estimulando a migração de monócitos para a túnica íntima e a diferenciação local dessas células em macrófagos, que terão como função fagocitar as partículas de LDLox, transformando-se em células espumosas (Ross, 1999). Estas células eventualmente morrem e liberam um elemento necrótico rico em lipídios na parede arterial. Ao mesmo tempo, células musculares lisas da

parede arterial são estimuladas a migrar da camada íntima, onde podem proliferar (Hupp, 2006).

Enquanto isso, microvasos invadem a área lesada, a qual é envolta por uma capa fibrosa, podendo causar hemorragia intraplaca. O *fatty streak* é composto de lipídios, calcificação e deposição da matriz extracelular proteica. Células T ativadas podem estimular a produção de metaloproteinase e citocinas por macrófagos, a qual remodela a placa fibrosa. Através dessa remodelação da matriz extracelular, a capa fibrosa pode se tornar fina e romper levando à trombose e subsequente oclusão arterial, a qual pode ser responsável por grande parte dos infartos do miocárdio (Dhadse et al., 2010).

Segundo Libby (2002), a formação do *fatty streak* torna-se um complicado ateroma pela multiplicação das células lisas, que estão acumuladas na placa e fixadas em abundante matriz extracelular. A lesão se torna mais volumosa diminuindo o lúmen arterial e dificultando a circulação sanguínea e levando à manifestações clínicas como: angina pectoris instável e infarto agudo do miocárdio.

Wong et al., (2012) apresentaram esquematicamente a evolução da aterosclerose humana. *Fatty streak* representa a primeira manifestação visível na aterogênese. Este *Fatty streak* frequentemente é envolvido por uma placa fibrosa, e o crescimento dessa placa pode progredir para diferentes desfechos: [I] Trombose, quando ocorrer a ruptura da placa fibrosa, [II] hemorragia intra-placa, devido a neovascularização anormal, permeabilidade vascular ou aumento no volume da placa, [III] estenose, ocasionado pela redução progressiva do lúmen e [IV] acréscimo Trombótica, como resultado do acúmulo sub-endotelial de plaquetas e fibrina.

No entanto, outro fator extremamente importante no processo inflamatório, assim como na formação da placa ateromatosa, são as citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas produzidas mediante estímulos.

## 2.2 Periodontite

A periodontite também é uma doença multifatorial e tem o biofilme bacteriano como fator etiológico primário. A manifestação e progressão da periodontite é influenciada por uma variedade de determinantes e fatores, incluindo fatores sociais, comportamentais, fatores genéticos e fatores associados à composição microbiana do biofilme dental (Nunn, 2003).

As periodontites são doenças destrutivas que causam perda de estruturas de suporte dos dentes (Lindhe et al., 1975), sendo associadas a vários agentes bacterianos (Haffajee e Socransky, 2005). Nas periodontites, os patógenos periodontais residem no ambiente anaeróbico do sítio periodontal, o que pode comprometer mecanismos antimicrobianos importantes da resposta do hospedeiro (Slots e Ting, 1999). Consequentemente, vários sinais clínicos podem ser detectados, como: perda de inserção clínica e sangramento subgengival, mas também aumento da profundidade de sondagem. Esses três parâmetros clínicos periodontais têm sido utilizados em diferentes critérios de definição para o estudo das periodontites no âmbito populacional e sistêmico. Uma série de critérios de definição de periodontite vem sendo utilizado na literatura, sem ainda um consenso sobre qual o melhor para os estudos epidemiológicos e de associação com doenças sistêmicas (Page e Eke, 2007; Eke et al., 2012). O fato é que aparentemente, os diferentes tipos de critérios de definição podem levar a diferentes resultados de associação da periodontite com condições sistêmicas (Loos et al., 2000; Buhlin et al., 2009; Andrukhov et al., 2011). Isso tem feito com que os pesquisadores utilizem nos estudos diversas maneiras de descrever o estado periodontal e associá-lo com os fatores e condições em estudo.

## **2.3 Mecanismos plausíveis da inter-relação entre a doença periodontal e a doença cardiovascular**

Nas últimas décadas têm se conduzido inúmeros estudos com os mais diversos desenhos avaliando o impacto da doença periodontal nas mais diversas condições sistêmicas dos indivíduos, incluindo as doenças cardiovasculares. A plausibilidade biológica da inter-relação entre DP e DCV se baseia na interação direta e/ou indireta entre os patógenos periodontais e o endotélio, ou outros mecanismos que impactam no processo aterosclerótico.

### **2.3.1 Mecanismos indiretos**

Há estudos que evidenciam que inflamação periodontal está associada com o aumento de mediadores inflamatórios em indivíduos sistemicamente saudáveis, incluindo proteína C-reativa (PCR), fator de necrose tumoral alpha (TNF-  $\alpha$  ), interleucina (IL) 1-  $\beta$  , IL-6 e IL-8, as quais também estão relacionadas com um maior risco de doenças cardiovasculares e aterosclerose (Loos et al., 2000; Buhlin et al., 2009; Andrukhov et al., 2011).

A inflamação sistêmica é associada com a ativação celular, que envolve moléculas de adesão celular, receptores *toll-like* e metaloproteinase da matriz. O resultado dessa inter-relação entre endotélio, monócitos e plaquetas pode ser pró-aterogênico, contribuindo indiretamente para a aterogênese ou para desfechos cardiovasculares adversos relacionados à ruptura da placa ateromatosa em pacientes com periodontite (Lockhart et al., 2012).

### **2.3.2 Mecanismos diretos**

A bacteremia oriunda do periodonto pode ocorrer durante hábitos diários, como escovação e a mastigação (Lockhart et al., 2009). Há evidências sugerindo que a bolsa periodontal é a principal fonte e porta para a corrente sanguínea das espécies bacterianas orais detectadas no sangue

(Lockhart et al., 2008). Os patógenos periodontais podem ser encontrados em placas ateromatosas de humanos, por exemplo, 80% das 50 espécimes da carótida foram positivas para pelo menos um ou mais dos seguintes patógenos: *A actinomycescomitans*, *T forsythia*, *P gingivalis* e *P intermédia* (Haraszthy et al., 2000).

## 2.4 Citocinas

Citocinas são pequenos polipeptídeos com largo espectro inflamatório, hematopoiético, metabólico e imunomodulatório, sendo produzidas por uma variedade de células, incluindo macrófagos/monócitos, células dendríticas, linfócitos, neutrófilos, células endoteliais e fibroblastos (Górska et al., 2003).

As citocinas apresentam um papel importante em diferentes processos fisiológicos, assim como em processos patológicos quando expressadas de forma inapropriada, e por isso sua atividade é cuidadosamente regulada (Graves e Cochran, 2003).

Segundo Graves e Cochran (2003), a resposta inflamatória tem sido caracterizada como aguda ou crônica. A resposta do hospedeiro também é dividida em duas categorias: a resposta imune inata (natural) e a resposta imune adaptativa (adquirida). A resposta imune inata assemelha-se caracteristicamente com a inflamação aguda, enquanto a adaptativa com a crônica.

A resposta imune adaptativa é uma resposta específica aos imunógenos agressores, sendo os principais elementos os linfócitos, derivados do timo (Células T) e da medula óssea (Linfócitos B) (Azuma, 2006).

Uma das estratégias mais importantes utilizadas pelo sistema imune do hospedeiro na defesa contra microrganismos é a produção e a secreção de proteínas sinalizadoras intercelulares, chamadas de citocinas. Algumas dessas citocinas, como IL-1, IL-6, IL-8, interferon (IFN-  $\gamma$  ) e TNF- $\alpha$  promovem a inflamação, já o fator de crescimento transformante (TFG-  $\beta$  ) e IL-10 regulam a resposta inflamatória (Feng e Weinberg, 2006).

Segundo Gemmell et al., (1997) as citocinas são vitais na imunopatologia de um grande número de doenças, e a liberação de citocinas “apropriadas” é essencial para o desenvolvimento de uma adequada resposta imunológica do hospedeiro. A seguir, serão abordadas as principais citocinas envolvidas na cascata de eventos da formação de ateromas e que podem estar vinculando as doenças periodontais às doenças cardiovasculares.



A Tabela 1 irá apresentar resumidamente as principais células secretoras das citocinas e seus efeitos sistêmicos, que posteriormente serão abordadas separadamente.

Tabela 1 – Células secretoras das citocinas e seus efeitos sistêmicos.

<b>Citocinas</b>	<b>Células secretoras</b>	<b>Efeito sistêmicos</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Macrófagos	Promove ativação de monócitos e neutrófilos, ligação dos leucócitos no endotélio.
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Células <i>NK</i> e Linfócitos T	Promovem ativação de macrófagos nos sítios inflamatórios
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Macrófagos e monócitos	Promove a coagulação e trombose.
<b>IL-6</b>	Fibroblastos e macrófagos	Aumento da PCR por alterar a síntese proteica. hepática
<b>IL-8</b>	Macrófagos e células endoteliais	Aumentados em placas fibrosas quando comparados com sítios sem alterações.
<b>IL-10</b>	Macrófagos e linfócitos	Relação entre alto nível sérico de IL-10 e novos eventos adversos em pacientes com SAC.

### 2.4.1 Interleucina-6

Yudkin et al., (2000) relataram que a IL-6 pode ter um importante papel no desenvolvimento das doenças coronárias através dos seguintes mecanismos: metabólico, endotelial e coagulante. Essa pode aumentar a glicose basal, alterar a sensibilidade à insulina, aumentar a liberação das moléculas de adesão pelo endotélio, aumentar a liberação hepática de fibrinogênio e ter efeito pró-coagulante nas plaquetas.

A IL-6 é uma citocina secretada por várias células, como fibroblastos, células epiteliais e células macrófágicas/monócitos, e o aumento da sua concentração ocorrerá por fatores como bactérias Gram-negativas. Também está envolvida na promoção da coagulação, o que pode resultar no desenvolvimento de aterosclerose (Ying Ouyang et al., 2011).

A IL-6 é um marcador pró-inflamatório, e altos níveis desta citocina estão associados com um maior risco de doença cardiovascular, apresentando um efeito na produção de triglicérides e induzindo a hipertrigliceridemia (Monteiro et al., 2009). Segundo Li et al. (2011) a IL-6 está associada também com um aumento da PCR por alterar a síntese proteica hepática, um fator de risco comprovado à doenças cardiovasculares.

Em 2008, Danesh et al., conduziram uma revisão sistemática na qual foi possível realizar meta-análise e verificaram que o aumento nos níveis de IL-6 está associado com o aumento progressivo do *odds ratio* para doenças cardiovasculares. Além disso, há uma associação moderada dessa citocina com fatores de riscos estabelecidos (fumo, diabetes e dislipidemia). Em outra revisão sistemática de estudos longitudinais com meta-análise conduzida por Kaptoge et al., (2014) verificaram que níveis circulantes de diferentes citocinas pró-inflamatórias em pessoas saudáveis estavam associadas com um maior risco de DCV. Esta associação parece ser independente dos fatores de risco convencionais para as doenças cardiovasculares. Os achados também sugeriram que, para cada um desvio padrão aumentado no *baseline* da IL-6 houve 25% maior risco de infarto agudo não fatal ou morte por infarto.

### 2.4.2 Interleucina-1 $\beta$

A exposição sistêmica a agentes infecciosos, como bactérias lipopolissacarídeas, podem resultar na liberação de citocinas inflamatórias como IL-1  $\beta$  e TNF- $\alpha$ , as quais acarretam em alterações no metabolismo e promovem hiperlipidemia (Cutler et al., 1999). Células inflamatórias e mediadores inflamatórios como TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$  e Prostaglandina E<sub>2</sub> têm um papel chave na doença coronariana e na aterosclerose. Além disso, a expressão da IL-1  $\beta$  promove a coagulação e a trombose (Karnoutsos et al., 2008).

### 2.4.3 Interleucina-8

A interleucina-8 é secretada no espaço extracelular como resultado de uma variedade de estímulos celulares. Todas as células nucleadas são fontes em potencial da secreção da IL-8, porém, as principais fontes celulares são monócitos e macrófagos (Apostolakis et al., 2009).

DeForge et al., (1992) relata que a IL-8 é resistente à temperatura e à proteólise, e apresenta relativa resistência ao ambiente ácido. Esta característica biomecânica faz desta uma molécula ideal para sítios inflamatórios agudos, onde deve afrontar condições rigorosas e hostis. A IL-8 será produzida em estágios iniciais da resposta inflamatória aguda, mas se mantém ativa por um prolongado período de tempo, dias ou até semanas. Esta característica se contrasta com a maioria das citocinas, as quais se mantêm *in vivo* por algumas horas.

Segundo Apostolakis et al., (2009) a presença da IL-8 em placas ateromatosas está efetivamente confirmada pela presença das suas principais fontes: macrófago, células musculares lisas e células endoteliais. Há evidências na literatura científica que suportam o envolvimento da IL-8 no estabelecimento e preservação da micro-inflamação da parede vascular.

Rus et al., (1996) conduziram um estudo utilizando teste ELISA e revelaram que os níveis de IL-8 estão significativamente aumentados em placas fibrosas quando comparados com sítios sem alterações, sendo o primeiro estudo a indicar IL-8 em placas ateromatosas. Apostolopoulos et al.,

(1996) identificou os macrófagos como sendo a principal célula produtora de IL-8 em placas ateroscleróticas.

#### **2.4.4 Interleucina-10**

A interleucina-10 é uma citocina imunoregulatória produzida por várias células, incluindo monócitos, linfócitos e macrófagos (Fiorentino et al., 1989). As propriedades anti-inflamatórias e antiaterogênicas da IL-10 tem sido demonstradas através de modelos de aterosclerose em ratos (Potteaux et al., 2004). Consistente com esses achados em animais, observações clínicas demonstraram que pacientes com Síndrome Aguda Coronária (SAC) têm reduzidos níveis de IL-10 quando comparados com pacientes estáveis, levando a acreditar que baixos níveis séricos da IL-10 podem ter um papel etiológico na instabilidade da placa ateromatosa (Smith et al., 2001). Heeschen et al., (2003) conduziram um estudo longitudinal no qual acompanharam os pacientes por 6 meses e relataram que pacientes com elevados níveis de IL-10 no exame de base apresentavam reduzido risco de morte e infarto do miocárdio. Estes achados, como um todo, sugerem que níveis elevados de IL-10 seriam benéficos do ponto de vista cardiovascular.

No entanto, alguns estudos têm apresentado resultados opostos aos achados anteriormente, como Mälarstig et al., (2008) que conduziram um estudo longitudinal e observaram que o nível sérico aumentado de IL-10 no exame de base foi um preditor independente de risco para subsequente desenvolvimento de infarto do miocárdio ou morte. Outro estudo com achados similares foi o de Cavusoglu et al., (2011) que verificaram que aumentados níveis de IL-10 no exame inicial estavam associados com o desenvolvimentos de Infarto agudo do miocárdio e morte. Na tentativa de solucionar essa questão, em 2014, foi conduzida uma revisão sistemática com meta-análise objetivando avaliar a relação entre o nível sérico de IL-10 e eventos adversos, e demonstraram que existe uma relação entre alto nível sérico de IL-10 e novos eventos adversos em pacientes com síndrome coronariana aguda, sendo um possível fator de prognóstico para pacientes cardiopatas (Liu et al. 2014).

### 2.4.5 Interferon- $\gamma$

Esta citocina, inicialmente foi descrita como sendo produto de um antígeno específico de células T. Durante a resposta inata será originada principalmente por células *Natural Killer* (NK) e células T (Trinchieri 2003; Trinchieri et al., 2003).

Os linfócitos T que residem em lesões ateroscleróticas secretam citocinas pró-inflamatórias como, IL-2, IL-12 e IFN- $\gamma$ , que levam a ativação de macrófagos contra o sítio inflamatório (Iwata e Nagai 2012). Segundo Libby (1995), o IFN- $\gamma$  inibe a síntese de colágeno em regiões vulneráveis da capa fibrosa da placa ateromatosa, este mecanismo propicia uma explanação molecular da falta de manutenção e reparo de colágeno em placas vulneráveis, permitindo um enfraquecimento e acarretando em uma possível ruptura da placa.

### 2.4.6 Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$

O TNF- $\alpha$  tem grande efeito na imunidade celular e humoral, estando também envolvido no início e no desenvolvimento das doenças arteriais coronarianas (Ying Ouyang et al., 2011). Tem como ação principal ativar monócitos e neutrófilos, além de ativar células endoteliais a expressarem moléculas de adesão, promovendo a ligação dos leucócitos ao endotélio no sítio da inflamação (Libby, 2002). Também favorece a expressão de um receptor chamado de LDLox na superfície de células musculares lisas, nas células endoteliais e nos macrófagos, favorecendo a formação de células espumosas e aumentando o processo inflamatório (Libby, 1995).

TNF- $\alpha$  é um mediador geral da inflamação, em conjunto com IL-1, induzem febre por estimular a produção de Prostaglandina E<sub>2</sub>. Estimula a produção de IL-6, IL-8 e moléculas de adesão de neutrófilos (integrinas) (Ceconi et al., 1998).

A contínua exposição a bactérias gram-negativas e ao LPS resulta na liberação de citocinas como, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e Prostaglandina E<sub>2</sub>, os quais podem ser fatores significantes na patogênese da aterosclerose e em acidente vascular cerebral (Karnoutsos et al., 2008).

## 2.5 Fatores de risco e prognóstico

Existe uma variação na terminologia de estudos na área de risco e prognóstico que muitas vezes podem confundir o leitor caso alguns conceitos não sejam esclarecidos. A primeira diferenciação que deve ser feita é o fato de que fator de risco se refere ao estabelecimento da doença, enquanto fator de prognóstico está relacionado com o curso da doença pré-existente. Dessa forma, pode-se afirmar que abordagens voltadas para fatores de risco que estão envolvidos com o estabelecimento da doença não necessariamente levarão a um prognóstico favorável no caso de a doença já estar presente (Beck, 1998). Isto se explica pelo fato de que os múltiplos fatores que geram a cura da doença podem ser diferentes dos que causam a mesma.

Existem várias definições para fator de risco, mas uma das mais usadas em Periodontia é da Academia Americana de Periodontia que diz que se trata de um fator ambiental, comportamental ou biológico, confirmado por uma sequência temporal, normalmente, por estudos longitudinais, o qual se presente diretamente aumenta a probabilidade de ocorrência da doença, e se ausente ou removido diminui a probabilidade (*Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology* 1996).

Além disso, ainda existe o termo preditores de risco que normalmente são marcadores biológicos indicativos do processo de doença, mas não são considerados como fatores etiológicos. Em Odontologia tendem a ser mensurações históricas das doenças estudadas, como o número de dentes perdidos ou evidências passadas de doença periodontal e cárie. O termo preditor de risco e marcadores de risco normalmente são usados como sinônimos. O termo marcador de risco tende a ser usado quando descrevemos preditores biológicos como PCR sendo um marcador da inflamação (Beck, 1998).

## 2.6 Evidências da associação inflamatória entre doença periodontal e cardiovascular

Os estudos de associação entre doenças periodontais e doenças cardiovasculares são conduzidos com diferentes delineamentos de pesquisa. Dentre os estudos observacionais, estudos de caso-controle e transversais compõem a maioria das evidências, apesar de alguns estudos longitudinais também terem sido conduzidos. Um aspecto que claramente diferencia os estudos é o perfil dos indivíduos incluídos, podendo ser divididos em indivíduos sistemicamente saudáveis ou com alguma doença cardiovascular já existente. Além disso, os estudos de associação entre as duas doenças avaliam dois tipos de desfecho, primários e secundários. Dentre os desfechos secundários destacam-se os biomarcadores inflamatórios de risco às doenças cardiovasculares, havendo ainda necessidade de estudos que avaliem desfechos reais como infarto e acidente vascular cerebral.

O aumento dos biomarcadores sistemicamente em processos inflamatórios crônicos podem ser interpretados como um “*link*” entre as infecções e as doenças cardiovasculares, porém ainda faltam evidências e um melhor entendimento de como esses processos biológicos podem afetar os níveis inflamatórios sistemicamente. Teles e Wang (2011), propuseram que as citocinas liberadas em indivíduos com doença periodontal podem atingir a corrente sanguínea e aumentar os níveis séricos sistêmicos. Muitas publicações têm mostrado elevações locais de mediadores inflamatórios em indivíduos afetados por periodontite e gengivite (Górska et al., 2003; Hou et al., 2003). Isto inclui citocinas com efeitos sistêmicos como IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , já apresentadas anteriormente. No entanto, parece não haver correlação entre os níveis de biomarcadores locais (fluido crevicular gengival) com os níveis séricos (Górska et al., 2003).

Vários estudos transversais e caso-controle demonstraram que a presença de periodontite está associada com um aumento nos níveis sistêmicos de biomarcadores envolvidos na doença cardiovascular. Alguns estudos merecem destaque. Buhlin et al., (2009) conduziram um estudo de caso-controle para avaliar associação entre níveis sistêmicos de marcadores



da doença cardiovascular com periodontite. Obtiveram como resultado na análise de regressão a associação da periodontite com elevados níveis plasmáticos de PCR, fibrinogênio, IL-18 e níveis menores de IL-4. Andrukhov et al., (2011) também observaram em seu estudo transversal níveis plasmáticos significativamente aumentados de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-10 em pacientes com periodontite quando comparados com pacientes periodontalmente saudáveis. Em 2000, Loos et al., realizaram um estudo transversal para avaliar marcadores em pacientes com periodontite e pacientes saudáveis. Concluíram que indivíduos com periodontite quando comparados a pacientes saudáveis apresentavam maiores quantidades de biomarcadores no plasma (IL-6, PCR e neutrófilos), tendo controlado para os fatores associados as doenças cardiovasculares como idade, educação, índice de massa corpórea, fumo, hipertensão e colesterol.

Estudos intervencionais (Vidal et al., 2013; Vidal et al., 2009), assim como, recentes meta-análises (Teeuw et al. 2014; Paraskevas et al., 2008), indicam que a terapia periodontal reduz os níveis plasmáticos de alguns biomarcadores inflamatórios. Esta redução também foi evidenciada por um estudo de coorte, onde associou a periodontite e a progressão da inflamação sistêmica (Gocke et al., 2014).

### **2.6.1 Doença Periodontal em pacientes cardiopatas**

Diferentemente dos estudos com indivíduos sistemicamente saudáveis, existe uma maior escassez de estudos associando doença periodontal com mudanças nos níveis sanguíneos de marcadores biológicos de inflamação em amostras de pacientes já com doença cardiovascular. Neste sentido, achados em pacientes cardiopatas podem prover informações relevantes para a prevenção de novos eventos cardiovasculares ou recorrência da doença. Levando em consideração os conceitos de risco anteriormente descritos, nesse contexto a doença periodontal poderia servir informações como um provável fator de prognóstico das doenças cardiovasculares.

Para esta revisão, a literatura foi buscada a partir da base de dados do Medline, considerando estudos recentemente publicados a partir do ano de

2005, a fim de manter o foco da discussão nos dados mais atuais. Duas palavras foram usadas para a pesquisa no banco de dados, “*periodontitis*” AND “*cardiovascular disease*” devendo estar presente no título/resumo, totalizando 303 publicações relacionada com o tema. Destes, foram selecionados 12 estudos, os quais avaliavam um possível impacto prognóstico da doença periodontal na doença cardiovascular. O resumo da metodologia e dos achados desses estudos estão na Tabela 1.

Montebugnoli et al., (2005) avaliaram a relação entre estado periodontal e doença coronariana, mensurando inflamação sistêmica e fatores hemostáticos em uma amostra de 18 pacientes, homens e não fumantes, que foram tratados periodontalmente. Todos os participantes apresentaram infarto do miocárdio dentro de um período de no máximo 6 meses, porém, com mais de 2 meses antes de entrar no estudo. Dois índices foram usados no estudo, o índice da soma do exame clínico periodontal (CPSS), onde somou-se o número de sítios com PS  $\geq$ 4mm, número de sítios com SS, supuração visível a sondagem e o número de lesões de furca maior que grau 1, já o índice de soma do escore radiográfico (CRSS) foi acrescentado ao CPSS o número de perda óssea vertical e lesões de furca. Amostras sanguíneas foram analisadas para detectar PCR, leucócitos e fibrinogênio de todos os participantes. Esses parâmetros foram analisados no início, depois de 4 meses sem tratamento periodontal como controle e depois de 3 meses após o tratamento. Constataram uma diminuição significativa em todos os parâmetros clínicos periodontais após tratamento. Uma diminuição significativa fora vista na PCR e no LDLox. Concluíram que os resultados preliminares sugerem uma associação entre pobre higiene oral e doenças cardiovasculares, e provém evidências que a melhora na condição periodontal pode influenciar a situação sistêmica inflamatória e hemostática de pacientes cardiopatas.

Higashi et al., (2009) avaliaram a disfunção endotelial em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e periodontite. Foram avaliado fluxo sanguíneo (FBF) em resposta a acetilcolamina (ACH), vasodilatador dependente do endotélio, vasodilatador independente do endotélio e nitroprussiato de sódio em 101 pacientes com DAC, 48 com periodontite e 53 sem periodontite. Os pacientes com periodontite foram aleatorizados em

uma taxa de 1:1 para receber tratamento periodontal (n=24) ou não receber tratamento periodontal (n=24). Os pacientes elegíveis para o estudo deviam contemplar aos seguintes itens:  $\geq 70\%$  de estenose em uma das artérias coronárias e com evidências de infarto do miocárdio ou pelo menos 1 das artérias com  $\geq 80\%$  de estenose e angina clássica sem ser provocada ao teste de esforço. Os níveis séricos de PCR e IL-6 foram significativamente mais altos no grupo com periodontite do que no grupo sem periodontite. O fluxo sanguíneo em resposta a ACH foi significativamente menor no grupo com periodontite. A terapia periodontal foi capaz de reduzir significativamente as concentrações de PCR de  $2.7 \pm 1.9$  para  $1.8 \pm 0.9$  mg/L e as de IL-6 de  $2.6 \pm 3.4$  para  $1.6 \pm 2.6$  ng/l. Os autores sugeriram que a doença periodontal está associada a disfunção endotelial em pacientes com DAC, e a inflamação sistêmica pode ser, em parte, a causa e predição da disfunção endotelial.

Vidal et al., (2009) conduziram um estudo intervencional buscando avaliar os efeitos do tratamento periodontal não cirúrgico nos níveis plasmáticos de PCR, IL-6 e fibrinogênio em pacientes que apresentavam doença periodontal e hipertensão arterial refratária. No total de 22 pacientes foram avaliados e randomizados em 2 grupos, um recebendo tratamento periodontal e outro recebendo tratamento tardio, após 3 meses. Dados periodontais, exames laboratoriais como a mensuração de IL-6, PCR e fibrinogênio foram realizados no exame inicial e 3 meses. No grupo teste foi observado que houve redução significativa nos níveis de IL-6, fibrinogênio e PCR após 3 meses do tratamento periodontal, enquanto no grupo controle houve aumento significativo nos níveis de IL-6 e PCR depois de 3 meses sem tratamento periodontal. Concluíram que o tratamento periodontal foi capaz de reduzir níveis sistêmicos de IL-6, PCR e fibrinogênio em pacientes hipertensivos com periodontite.

Dorn et al., (2010) realizaram um estudo prospectivo com o objetivo de avaliar a associação entre doença periodontal e o risco de um novo evento em pacientes com história médica de infarto agudo do miocárdio. Todos os pacientes entre 1997 a 2004 que sobreviveram ao infarto foram elegíveis para o estudo. O total de participantes foi de 884 (668 homens e 216 mulheres) com idade média de  $54 \pm 8.5$  anos. A doença periodontal foi mensurada pela perda de inserção clínica. A variável de desfecho foi evento

cardiovascular fatal e não-fatal. Após um período médio de 2,9 anos de acompanhamento observaram 168 eventos recorrentes, onde 137 eventos foram não fatais, 17 fatais e 14 foram relacionados a outras causas de morte. Entre os pacientes que relataram nunca fumar, a perda de inserção foi associada a um risco aumentado de eventos cardiovasculares recorrentes em modelos ajustados e não-ajustados. Após ajuste para idade, gênero, educação e diabetes, notou-se que a cada 1mm de perda de inserção houve 39% mais risco para um evento cardiovascular recorrente. Estes achados indicam que a doença periodontal pode ser um fator importante em determinar eventos cardiovasculares recorrentes em pacientes com infarto prévio.

Em outro estudo prospectivo, Renvert et al., (2010) avaliaram se a recorrência de síndrome aguda coronariana (SAC) poderia ser predita por condições médicas e periodontais. Realizaram um acompanhamento de 3 anos em 165 pacientes com SAC e 159 pacientes sistemicamente saudáveis. Verificaram que a recorrência de SAC foi em 66 dos 165 pacientes (40%), e um primeiro evento foi encontrado em apenas 7 dos 159 (4,4%) sadios. Como resultado eles sugeriram que periodontite fora associada com um primeiro evento de SAC (OR: 10.3:1; 95% CI: 6.1 a 17.4;  $P < 0.001$ ) e um evento agudo recorrente (OR: 3.6:1; 95% CI: 2.0 a 6.6;  $P < 0.001$ ). Na análise multivariada, controlada para idade e futuros eventos agudos, fora identificado que contagem de células brancas, periodontite e creatinina no plasma foram variáveis explanatórias para futuro evento cardíaco. Concluíram que futuros eventos podem ser preditos por periodontite, assim como contagem de células brancas e creatinina.

Tang et al., (2011) realizaram um estudo transversal para avaliar os níveis séricos de citocinas inflamatórias e perfil lipídico em um total de 124 pacientes, destes, 101 com doença cardiovascular crônica e doença periodontal e 23 pacientes com doença cardiovascular e sem doença periodontal. Em todos os pacientes foram aplicados questionários, exame periodontal e coleta de amostras sanguíneas. Fora observado que os níveis de colesterol, triglicerídeos, LDLox, LDL, PCR, IL-6 e TNF- $\alpha$  fora significativamente maior em pacientes com DCV e periodontite do que em pacientes com DCV e sem periodontite.

Bokhari et al., (2012) conduziram um ensaio clínico randomizado em pacientes com periodontite e DAC diagnosticada por angiografia. De um total de 1963 pacientes elegíveis, foram incluídos 317, os quais foram randomizados em 2 grupos, o grupo teste que recebera tratamento periodontal e no controle que não foram tratados periodontalmente. Os parâmetros periodontais, assim como os marcadores sistêmicos (PCR como desfecho primário, fibrinogênio e contagem de células Brancas como desfechos secundários) foram mensurados em 3 momentos, no exame inicial, um e dois meses de acompanhamento. O estudo fora completado com 246 pacientes (Grupo teste – 161, Grupo Controle - 85) e observaram que os níveis plasmáticos de PCR reduziram significativamente no grupo teste de  $4.4 \pm 0.2$  mg/L no exame inicial para  $3.4 \pm 0.2$  mg/L e  $3.1 \pm 0.2$  mg/L, respectivamente nos meses 1 e 2, enquanto no grupo controle mantiveram-se estáveis. Também verificaram diferenças significativas intra-grupo de fibrinogênio no grupo teste e mudança significativa intra-grupo na contagem de células brancas ( $7.8 \pm 0.19 \cdot 10^9/L$ ,  $7.1 \pm 0.19 \cdot 10^9/L$  e  $6.7 \pm 0.19 \cdot 10^9/L$ ). Concluíram que em pacientes com DAC e periodontite o tratamento periodontal reduzira significativamente os níveis séricos de PCR, fibrinogênio e contagem de células brancas.

Rastogi et al., (2012) realizaram um estudo de intervenção para avaliar a eficácia da terapia periodontal não cirúrgica nos níveis séricos dos biomarcadores inflamatórios em pacientes com doença arterial coronariana. Um total de 20 pacientes foram incluídos nesse ensaio clínico de braço único. Os parâmetros clínicos periodontais utilizados foram, a profundidade de sondagem e sangramento subgengival. Todos os pacientes receberam tratamento periodontal. Os marcadores sistêmicos (PCR, TNF- $\alpha$  e a contagem de células brancas) foram avaliados antes e após 30 dias do tratamento. PCR e contagem de células brancas apresentaram reduções estatisticamente significante, enquanto a TNF- $\alpha$  não apresentou redução significativa.

Koppolu et al., (2013) avaliaram qual a influência da doença periodontal e do tratamento periodontal nos níveis séricos de PCR e TNF- $\alpha$  em pacientes com doença cardiovascular. Após a inclusão de 40 pacientes, foram divididos aleatoriamente em um grupo controle (sem tratamento

periodontal) e em um grupo teste (com tratamento periodontal). O estudo teve acompanhamento de 2 meses. Observaram que a diminuição da PCR e TNF- $\alpha$  aconteceu nos dois grupos, porém apenas no grupo teste obtiveram uma diferença estatisticamente significativa.

Vidal et al., (2013) realizaram um estudo piloto intervencional em 26 pacientes portadores de hipertensão refratária e periodontite crônica, avaliando os efeitos da terapia periodontal não cirúrgica. Os níveis plasmáticos de PCR, fibrinogênio e IL-6, espessura arterial (EA) e massa ventricular esquerda (MVE) foram mensurados em 3 diferentes momentos (inicial, 3 meses após o exame inicial sem a realização de tratamento periodontal e 6 meses após a terapia periodontal). A terapia periodontal reduziu todos os marcadores cardiovasculares avaliados. Concluíram que a terapia periodontal reduziu significativamente os níveis de PCR, IL-6, fibrinogênio, pressão sanguínea, MVE e a espessura arterial, diminuindo o risco cardiovascular em pacientes com hipertensão refratária.

Bokhari et al., (2014) avaliaram a possível associação entre parâmetros clínicos periodontais e biomarcadores associados a risco cardiovascular em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e periodontite. Foram examinados 317 pacientes com DAC e periodontite, os quais não apresentavam outra doença sistêmica. Avaliaram profundidade de sondagem, perda de inserção e sangramento subgengival associando-os com PCR, fibrinogênio e contagem de células brancas. Foi observado uma significativa relação positiva entre as médias de sangramento subgengival e níveis séricos de PCR ( $r=0.629$ ;  $p<0.001$ ), fibrinogênio ( $r=0.424$ ;  $p<0.001$ ) e células brancas ( $r=0.493$ ;  $p<0.001$ ). Estas associações possivelmente refletem o potencial do desafio inflamatório periodontal nos níveis sistêmicos de proteínas da fase aguda envolvidas nas doenças cardiovasculares.

Flores et al., (2014) avaliaram o impacto da condição periodontal na concentração sérica de PCR e de lipídios em pacientes com DAC. Observaram em modelos não ajustados que pacientes com periodontite severa e com histórico de infarto do miocárdio apresentavam níveis mais elevados de triglicérides, VLDL e glicose. No modelo linear de regressão múltipla observaram que número de dentes com perda de inserção  $\geq 6$ mm e presença de periodontite severa foi significativamente associado com

maiores concentrações de PCR. Sangramento a sondagem foi associado com triglicerídeos, colesterol total e não-HDL. Concluíram que pacientes com doença coronariana estável, a inflamação periodontal está associada com marcadores inflamatórios cardiovasculares, como PCR e lipídeos.

Dessa forma, pode-se observar que existem evidências advindas de diferentes delineamentos em pesquisa de que a doença periodontal pode ser um fator de prognóstico para a doença cardiovascular. Em suma, os estudos observacionais demonstraram associações entre parâmetros periodontais e desfechos sanguíneos focando em PCR, perfil lipídico, IL-6 e fibrinogênio. Alguns estudos intervencionais também suportam este papel, tendo demonstrado efeito redutor nestes marcadores após o tratamento periodontal. Apesar disso, não existem estudos avaliando outras citocinas importantes para a cascata de eventos cardiovasculares, especificamente TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-10.

Tabela 2 - Resumo dos estudos descritos na evidência

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Delineamento</b>	<b>Amostra</b>	<b>Desfechos</b>	<b>Resultado</b>	<b>Lacunas/Limitações</b>
<b>Montebugnoli et al.</b>	2005	Intervencional	18	PCR, Fatores hemostasia e Ldlox	Redução significativa de PCR ( $p<0.05$ ) e LdLox ( $p<0.01$ )	Não aleatorizado
<b>Higashi et al.</b>	2009	Intervencional	101	PCR, IL-6, fluxo vascular induzido	PCR e IL-6 foram significativamente mais altos no grupo com periodontite do que no grupo sem periodontite	
<b>Vidal et al.</b>	2009	Intervencional	22	IL-6, PCR, fibrinogênio	Redução significativa dos marcadores IL-6, PCR e fibrinogênio no grupo teste	
<b>Dorn et al.</b>	2010	Longitudinal	884	Evento maior	Não fumantes OR 1.43 para perda de inserção (milímetros)	
<b>Renvert et al.</b>	2010	Longitudinal	165/169	Recorrência de SAC	Periodontite OR 10.3:1 primeiro evento e 3.6:1 para um evento recorrente	
<b>Tang et al.</b>	2011	Transversal	101/23	Colesterol, triglicérides, LDLox, LDL, PCR, IL-6 e TNF-alpha	CT, TG, LDLox, LDL, PCR, IL-6 e TNF- $\alpha$ significativamente maior em pacientes com periodontite.	



<b>Bokhari et al.</b>	2012	Intervencional	317	PCR, fibrinogênio, leucócitos	Redução de 38% no número de pacientes com PCR<3mg/L.	
<b>Rastogi et al.</b>	2012	Intervencional	20	PCR, TNF, leucócitos	PCR e leucócitos reduziram significativamente,	Sem grupo controle (ausência de tratamento periodontal)
<b>Koppolu et al.</b>	2013	Intervencional	20/20	PCR e TNF	No grupo da terapia periodontal reduziu significativamente PCR e TNF.	
<b>Vidal et al.</b>	2013	Intervencional	26	PCR, fibrinogênio, IL-6	Os níveis de PCR, IL-6 e fibrinogênio reduziram 0.5mg/l, 1.4pg/dl e 37.5 mg/dl respectivamente, após 6 meses do tratamento.	Não aleatorizado
<b>Bokhari et al.</b>	2014	Transversal	317	PCR, fibrinogênio, leucócitos	Associação entre PCR e BOP (r=0.629). BOP foi preditor de níveis sistêmicos de PCR(p<0.0001)	Ausência de um grupo de pacientes sem periodontite. Diabéticos e fumantes excluídos.
<b>Flores et al.</b>	2014	Transversal	93	PCR	Número de dentes com PS ≥6mm e presença de periodontite severa foi significativamente associado com maiores níveis de PCR e lipídeos	

### **3 - ARTIGO CIENTÍFICO**

## Association between periodontal disease and blood cytokines markers in stable coronary artery disease patients

Cassio Kampits<sup>\*</sup>, Marlon M. Montenegro<sup>†</sup>, Ingrid W. Ribeiro<sup>‡</sup>, Mariana V. Furtado<sup>§</sup>, Carisi A. Polanczyk<sup>\*\*</sup>, Cassiano K. Rösing<sup>††</sup>, Alex. N Haas<sup>‡‡</sup>

Corresponding author:

Alex Nogueira Haas

Ramiro Barcelos, 2492. Porto Alegre, Brazil, 90035-003

Phone/fax: +55 51 33085318

[alexnhaas@gmail.com](mailto:alexnhaas@gmail.com) (can be published)

Word count: 2,530

Number of tables: 4

Number of figures: 1

Running title: Periodontal disease and cytokines in cardiac patients

One-sentence summary: Worst periodontal status is associated with higher blood levels of IFN $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$  in chronic coronary artery patients under cardiovascular care. These findings provide additional evidence for supporting periodontal disease as a prognostic factor in cardiovascular patients.

---

<sup>\*</sup> DDS, MS, PhD, Periodontology, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul

<sup>†</sup> DDS, MS, Periodontology, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul

<sup>‡</sup> DDS, MS, Periodontology, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul

<sup>§</sup> MD, MS, PhD, Cardiology Division, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul

<sup>\*\*</sup> MD, ScD, Cardiology Division, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul

<sup>††</sup> DDS, MS, PhD, Periodontology, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul

<sup>‡‡</sup> DDS, MS, PhD, Periodontology, Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul

## **ABSTRACT**

**Background:** Little is known about the association between periodontal disease and systemic cytokines in coronary artery disease (CAD) patients under cardiovascular care. The aim of this study was to assess the association between periodontal disease and low-grade inflammatory blood markers in stable CAD patients.

**Methods:** 89 patients with stable CAD under cardiovascular care for at least 6 months were included in this cross-sectional study. Blood levels of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$  and TNF $\alpha$  were measured using the Multiplex technology. A full-mouth six sites per tooth periodontal examination was conducted to record probing depth (PD) and clinical attachment loss (CA loss). Multiple linear regression models adjusting for gender, body mass index and smoking were used to study the association between periodontal status and log levels of cytokines.

**Results:** Significant associations between periodontal parameters and IFN $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$  were observed. Higher numbers of teeth with CA loss and PD  $\geq$ 6 mm were significantly associated with higher concentrations of IFN $\gamma$ . Mean CA loss and PD were significantly related to IL-10. Elevated concentrations of TNF $\alpha$  were associated with higher mean CA loss.

**Conclusion:** Periodontal disease is associated with increased systemic inflammation in cardiovascular patients. These findings provide additional evidence for supporting periodontal disease as a prognostic factor in cardiovascular patients.

**Key words:** cytokine, cardiovascular disease, periodontal disease, periodontitis, interleukins

## INTRODUCTION

Inflammation has an important role in the initiation and development of atherosclerosis.<sup>1, 2</sup> Atherosclerotic lesions are comprised by various cell types that produce pro- and anti-inflammatory cytokines that took part in the cascade of plaque formation in vessel walls.<sup>3</sup> Specifically, IL-6, TNF- $\alpha$  and IFN- $\alpha$  are cytokines that have been found in elevated concentrations in blood from cardiovascular patients.<sup>4-6</sup> Also, it was demonstrated that IL10 is increased in unstable compared to stable atheromas.<sup>7</sup> Moreover, IL-6 and TNF- $\alpha$  have direct effects in the production and release of C reactive protein (CRP)<sup>8</sup> and, consequently, have been also used as predictors of future cardiovascular events.<sup>9</sup>

One of the possible mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases is the low-grade inflammatory effect resulting from the periodontal etiopathogenic process.<sup>6, 10</sup> In this regard, it has been demonstrated that periodontitis increases systemic levels of some of the above-mentioned cytokines related to cardiovascular disease.<sup>11-13</sup> Noteworthy, most of this evidence was provided by studies conducted in otherwise healthy individuals.

There is little information about the systemic effects of periodontal disease in stable cardiovascular patients. Some studies have evaluated the association between periodontal disease and systemic inflammatory biomarkers in cardiovascular patients.<sup>14-17</sup> In general, these studies evaluated CRP, fibrinogen and white blood cells (WBC) as outcome measures. In a previous report, our research group also demonstrated that CRP and lipids concentrations increased with worst periodontal clinical parameters in coronary artery disease (CAD) patients.<sup>18</sup> Nevertheless, to the best of the authors' knowledge, no cross-sectional study has evaluated the association between periodontal parameters and blood levels of a broad range of cytokines involved in the low-grade inflammatory process in cardiovascular patients. The study about the association between periodontal status and blood inflammatory cytokines in cardiovascular patients may indicate a prognostic effect of periodontal inflammation and destruction in the occurrence of future cardiovascular events in these patients.

The aim of this study was to assess the association between periodontal disease and blood cytokines in stable CAD patients under standart cardiovascular care.

## MATERIALS AND METHODS

This was a cross-sectional observational study conducted with stable coronary artery disease (CAD) patients who were receiving cardiovascular care for at least 6 months in a tertiary care cardiovascular clinic at the University Hospital of Porto Alegre, Brazil. The protocol of cardiovascular care provided was previously described in details<sup>18, 19</sup> and basically included medication and counseling.

To be included in the study, all patients had to present CAD defined as the occurrence of at least one of the following events 6 months prior to entering the study: documented history of myocardial infarction, stable angina or ischemia in non-invasive tests; surgical or percutaneous myocardial revascularization and lesion >50% in at least one coronary artery assessed by angiography; presence of angina and positive noninvasive testing of ischemia. Additional inclusion criteria included the presence of at least four teeth, no periodontal treatment, no use of antibiotics and anti-inflammatory drugs in the last 6 months.

Overall, 239 consecutive patients were evaluated from April 2011 to December 2011. 78 (32.6%) individuals had less than four teeth, 30 (12.6%) refused participation and 17 (7.1%) lived outside the city and were not available for clinical examination. Moreover, 16 (6.7%) did not attend the clinical examination appointment. Finally, clinical examinations were performed in 98 (41.0%) individuals; however, 9 did not undergo laboratory blood analysis. The final sample of the present investigation comprised 89 individuals. Figure 1 illustrates the study sample flow diagram.

The study protocol was approved by the Institutional Review Boards of the University Hospital and the Federal University of Rio Grande do Sul. All participants read and signed an informed consent before entering the study.

### *Power of the sample*

Power calculation was performed considering a multivariable linear regression model with  $R^2$  equal to 0.20, using alpha and beta errors of 5% and 20%, respectively. Considering a model with six independent variables, it was estimated that a sample of 89 individuals would be needed to find significant associations between any systemic cytokine (primary outcome) and periodontal parameters.

### *Data collection*

A structured written questionnaire was applied to collect demographic and behavioral data. Age, gender and smoking exposure were assessed. Medical history, use of medication, weight, and height were assessed at the hospital patient records.

Clinical periodontal parameters were assessed with a manual periodontal probe\* by two calibrated examiners unaware of the cardiovascular inflammatory condition. Visible plaque (VP), gingival recession (GR), probing depth (PD) and bleeding on probing (BOP) were recorded at six sites per tooth in all present teeth, excluding third molars. Clinical attachment loss (CA loss) was obtained by the sum of GR and PD.

### *Blood samples*

Each individual provided 20ml of blood collected by a trained nurse from the antecubital fossa. Fasting blood samples were obtained between 7:00am and 12:00pm to control for possible diurnal variations. 10 mL of blood was stored at Eppendorf tubes containing EDTA and was immediately centrifuged for analysis in the Clinical Research Center of the University Hospital. Plasma from the remaining 10 mL was stored at -70° Celsius for quantification of cytokines.

### *Cardiovascular status*

The cardiovascular status of the patients was assessed by known blood risk markers for cardiovascular events. High-sensitive C reactive protein (CRP), glucose, triglycerides (TG), total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured by automated enzymatic colorimetric methods† following the manufacturer instructions. CRP was measured using the intensified immunoturbidimetry by latex. Glucose was obtained using the glucose-hexokinase method II. Total cholesterol was dosed by the colorimetric enzymatic method with cholesterol-esterase, cholesterol oxidase followed by an end point Trinder type. Triglycerides were measured by the Trinder GPO method. HDL-C was assessed by the HDL-*Directo* (HDL-D) using the principles of elimination/catalase. Low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was calculated using the Friedwald formula [LDL-C=total cholesterol – (HDL-C + TG/5)]. Glycated hemoglobin was obtained by high

---

\* Williams probe, Newmar, São Paulo, Brazil

† ADVIA 1800, Siemens, Germany

precision chromatography<sup>‡</sup>.

### *Systemic cytokines*

Plasmatic levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$  and TNF $\alpha$  were measured using the Luminex methodology in combination with the 3.1 Xponent software<sup>§</sup>. The MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel-07 kit<sup>\*\*</sup> was used following the manufacturer's instructions. The results were expressed as standard curve units in pg/ $\mu$ L. All samples were analyzed at the same time under standardized experimental conditions.

### *Reliability*

Intra- and inter-examiner reliability was evaluated before and during the study. Duplicate measurements of GR and PD were conducted with a 1-hour interval between each measurement in groups of 3 to 5 patients. A total of 35 patients from the Faculty of Dentistry of the Federal University of Rio Grande do Sul were examined. Intra-examiner weighted kappa values ( $\pm 1$ mm) ranged from 0.87 to 0.90 for PD and 0.78 to 0.81 for CA loss. The inter-examiner reliability revealed values ranging from 0.70 to 0.80.

### *Statistical analysis*

The outcomes of the present study were blood levels of inflammatory cytokines. Thus, models were fitted separately for each of the following cytokines: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , and TNF $\alpha$ . Cardiovascular blood markers (CRP, triglycerides, lipids, glucose, glycated hemoglobin) were expressed as means and standard deviations (SD) to describe the cardiovascular profile of the sample.

Means of visible plaque, PD, CA loss, BOP and number of lost teeth were calculated for each individual to describe the periodontal condition of the sample. Moreover, the number of teeth with PD and CA loss  $\geq 6$ mm were calculated. Individuals were also classified as having severe periodontitis in the presence of  $\geq 2$  interproximal site with CA loss  $\geq 6$ mm and  $\geq 1$  interproximal site with PD  $\geq 5$ mm in

---

<sup>‡</sup> Merck-Hitachi L-9100, Merck, Germany

<sup>§</sup> Luminex Corp., Austin, TX, USA

<sup>\*\*</sup> HCYTOMAG-60k, EMD Millipore, Saint Charles, USA



non-adjacent teeth.<sup>20</sup>

Multiple linear regression models were used to study the association between periodontal status and systemic levels of cytokines. In these models, periodontal status was defined using four different criteria: mean CA loss, mean PD, number of teeth with CA loss  $\geq 6$ mm and PD  $\geq 6$ mm. Cytokines concentrations had asymmetric distributions and were log transformed (base 10). Predictive models were fitted including periodontal status as the main independent variable and adjusting for gender, body mass index and lifetime smoking exposure (packyears). Multicollinearity and interactions were not found during model fitting. The residuals were used to assess fitness of the model. Regression coefficients, standard errors (SE) and adjusted  $R^2$  were expressed. Additionally, an exploratory analysis was conducted by stratified comparisons according to the control status of triglycerides using 150 mg/dL as the cut-off.

Secondary analysis was conducted using diagnostic tests to estimate the magnitude that severe periodontitis may predict higher levels of systemic cytokines. For this analysis, cytokines were dichotomized using the median value. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values were calculated for severe periodontitis and each cytokine.

Statistical analyses were performed using a statistical package <sup>††</sup>. The individual was the unit of analysis. The alpha level was set at 5%.

## RESULTS

The mean age of sample was 63.0 (SD: 9.9) years. 59.6% of the sample was comprised by men, and most of the individuals were non-smokers and former smokers (Table 1). A poor periodontal condition was observed, with high levels of plaque and bleeding on probing. Also, mean CA loss and PD equaled 3.0mm and 4.8mm, respectively. Overall, 68 (76.4%) individuals had severe periodontitis. In average, individuals had 12.7 lost teeth.

Table 1 shows the cardiovascular status and the concentrations of systemic cytokines of the study sample. The concentration of CRP was 4.5 mg/dL. Considering the observed mean values, cardiovascular patients from the present study had elevated levels of triglycerides, whereas lipids were mostly under control.

---

<sup>††</sup> STATA SE for Macintosh version 10, StataCorp, College Station, USA

There were significant associations between periodontal parameters and IFN $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$  (Table 2). Higher numbers of teeth with CA loss and PD  $\geq$ 6 mm were significantly associated with higher concentrations of IFN $\gamma$ . Mean CA loss and PD were significantly related to IL-10. Elevated concentrations of TNF $\alpha$  were associated with mean higher CA loss. When a stratified analysis was conducted according to triglycerides control (Table 3), the association between number of teeth with CA loss  $\geq$ 6 mm and IFN $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$  was significant, indicating an effect modification. In individuals poorly controlled for triglycerides ( $\geq$ 150 mg/dL), the number of teeth with CA loss  $\geq$ 6 mm was significantly associated with IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$ . There was also a positive and significant association between teeth with CA loss  $\geq$ 6 mm and IL-10 in individuals with good control of triglycerides.

Table 4 presents data for diagnostic tests of severe periodontitis as a predictor of cytokines blood concentrations above the median. A positive diagnosis of periodontitis indicated sensitivity values ranging between 77.8 and 84.4, whereas the absence of periodontitis was related to low values of specificity (range 20.0 to 31.8). Positive predictive values were close to 50.0. Negative predictive values varied between 38.1 (IL-1 $\beta$ ) and 66.7 (IFN $\gamma$ ).

## DISCUSSION

The present study demonstrated that periodontal disease is associated with systemic inflammation in cardiovascular disease patients. Specifically, poor periodontal condition, as measured by CA loss and PD, was associated with increased blood levels of IFN $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$ . Moreover, the associations were modified by control status of triglycerides.

In this study, there was a direct and significant association between mean CA loss and PD with systemic levels of IL-10. There is a controversy in the literature regarding the role of IL-10 in the cascade of cardiovascular events. Some studies indicate that high concentrations of IL-10 may have a protective effect on myocardial infarction.<sup>21, 22</sup> Other longitudinal observational studies<sup>23, 24</sup> have observed that baseline elevated blood levels of IL-10 increased the risk for infarction. Finally, a meta-analysis<sup>25</sup> demonstrated that high IL-10 serum levels were significantly associated with new cardiovascular events over time in acute coronary syndrome patients. Considering these evidences and the present findings altogether, it seems that periodontal disease may play a detrimental effect on atherosclerosis also by increasing

the levels of IL-10.

IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  are proatherogenic cytokines.<sup>26</sup> IFN $\gamma$  acts on smooth muscle cells by inhibiting collagen production and smooth cell proliferation altering the plaque composition and stability.<sup>27</sup> Whereas, TNF $\alpha$  is involved in the stimulation of IL-6 production.<sup>28, 29</sup> In the present study, clinical parameters of periodontal inflammation and destruction were significantly associated with IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$ . These findings indicate that periodontal disease may act in early stages of the cascade of atherogenic events in cardiovascular patients by increasing the levels of IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$ .

Noteworthy, periodontal disease was not associated with blood levels of IL-6 in the present sample of cardiovascular patients. This pro-inflammatory cytokine is directly involved in the hepatic production of CRP.<sup>8</sup> Although CRP has been more extensively used in clinical practice, IL-6 has also been shown to have a strong prediction value for future cardiovascular events in epidemiological studies.<sup>9</sup>

In the present study with cardiovascular patients, the concentration of triglycerides was found to be an effect modifier of the association between periodontal tissue breakdown and some cytokines. The systemic inflammatory effect of periodontal attachment loss on IFN $\gamma$  and IL-1 $\beta$  was only significant in patients with high levels of triglycerides even after controlling for gender, BMI and smoking. Although, IL-10 was associated with the number of teeth with CA loss  $\geq 6$ mm only in patients with low levels of triglycerides. Previous findings have also suggested some modulatory effect of elevated levels of triglycerides on the production of some cytokines when stimulus came from *P. gingivalis* lipopolysaccharides.<sup>30</sup> These data indicate that the effect of periodontal disease on systemic inflammation may differ with different levels of cardiovascular control.

In the present study, the diagnosis of severe periodontitis was correlated with cytokine concentrations above the median by calculating values for sensitivity, specificity, positive and negative predictive values. Using this analytical strategy, it was evidenced that periodontal examination for establishing the presence of periodontitis may be recommended due to sensitivity values near to 80%, indicating that the presence of periodontitis will be related most of the times with concentrations of cytokines above the median. On the contrary, with the diagnosis of periodontitis already defined as present, the prediction probabilities of concentrations of cytokines above the median were low and between 51.5 and 55.9 (positive predictive values).

With the diagnosis defined as absence of periodontitis, the prediction of low levels of IFN $\gamma$  performed better (66.7) compared to other cytokines.

The results of the stratified analysis conducted in this study should be interpreted with caution due to loss of statistical power. Other limitation of this study may include the cross-sectional nature precluding drawing causal inference for the associations. Also, most of the individuals included in this study were over 60 years of age, and this should be put into perspective when extrapolating the findings.

It is noteworthy that this study applied well-established methodologies strengthening its findings. In this regard, cytokines were measured using the Multiplex technology that allows fast, reliable and accurate quantification of biomarkers in the blood. The analyses controlled for possible confounding effects by applying multivariable models. Moreover, periodontal examinations were conducted using a full-mouth six sites per tooth protocol avoiding assessment bias. Also, a broad range of periodontal parameters was used to define the periodontal status of the sample and to associate with blood levels of cytokines.

## **CONCLUSION**

Periodontal disease is associated with increased systemic inflammation in cardiovascular patients. Worst clinical attachment loss and probing depth were associated with higher blood levels of IFN $\gamma$ , IL-10 and TNF $\alpha$  even controlling for important confounders. These findings provide additional evidence for supporting periodontal disease as a prognostic factor in cardiovascular patients.

## **CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare no conflicts of interest related to this study. This study was funded by the National Council of Technological and Scientific Development (grant number 476387/2010-8)

## **REFERENCES**

1. Pasqui aL, Di Renzo M, Bova G, et al. Pro-inflammatory/anti-inflammatory cytokine imbalance in acute coronary syndromes. *Clinical and experimental medicine* 2006;6:38-44.
2. Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science (New York, NY)* 1973;180:1332-1339.
3. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868-874.

4. Welsh P, Murray HM, Ford I, et al. Circulating interleukin-10 and risk of cardiovascular events: a prospective study in the elderly at risk. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2011;31:2338-2344.
5. Klingenberg R, Hansson GK. Treating inflammation in atherosclerotic cardiovascular disease: emerging therapies. *European heart journal* 2009;30:2838-2844.
6. Schenkein Ha, Loos BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *Journal of clinical periodontology* 2013;40 Suppl 1:S51-69.
7. Nishihira K, Imamura T, Yamashita A, et al. Increased expression of interleukin-10 in unstable plaque obtained by directional coronary atherectomy. *European heart journal* 2006;27:1685-1689.
8. Ridker PM, Luscher TF. Anti-inflammatory therapies for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2014;35:1782-1791.
9. Kaptoge S, Seshasai SRK, Gao P, et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *European heart journal* 2014;35:578-589.
10. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, et al. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:2520-2544.
11. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of periodontology* 2000;71:1528-1534.
12. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, et al. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 2009;36:541-549.
13. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. *Journal of periodontology* 2011;82:885-892.
14. Montebugnoli L, Servidio D, Miaton RA, et al. Periodontal health improves systemic inflammatory and haemostatic status in subjects with coronary heart disease. *Journal of clinical periodontology* 2005;32:188-192.
15. Bokhari SAH, Khan AA, Butt AK, et al. Periodontitis in Coronary Heart Disease Patients: Strong Association between Bleeding on Probing and Systemic Biomarkers. *Journal of clinical periodontology* 2014.
16. Vidal F, Cordovil I, Figueredo CMS, Fischer RG. Non-surgical periodontal treatment reduces cardiovascular risk in refractory hypertensive patients: a pilot study. *Journal of clinical periodontology* 2013;40:681-687.
17. Higashi Y, Goto C, Hidaka T, et al. Oral infection-inflammatory pathway, periodontitis, is a risk factor for endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2009;206:604-610.
18. Flores MF, Montenegro MM, Furtado MV, Polanczyk CA, Rösing CK, Haas AN. Periodontal status affects C-reactive protein and lipids in patients with stable heart disease from a tertiary care cardiovascular clinic. *Journal of periodontology* 2014;85:545-553.
19. da Silveira AD, Ribeiro RA, Rossini AP, et al. Association of anemia with clinical outcomes in stable coronary artery disease. *Coronary artery disease* 2008;19:21-26.

20. Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 2012;83:1449-1454.
21. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107:2109-2114.
22. Smith DA, Irving SD, Sheldon J, Cole D, Kaski JC. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation* 2001;104:746-749.
23. Mälarstig a, Eriksson P, Hamsten a, Lindahl B, Wallentin L, Siegbahn a. Raised interleukin-10 is an indicator of poor outcome and enhanced systemic inflammation in patients with acute coronary syndrome. *Heart (British Cardiac Society)* 2008;94:724-729.
24. Cavusoglu E, Marmur JD, Hojjati MR, et al. Plasma interleukin-10 levels and adverse outcomes in acute coronary syndrome. *The American journal of medicine* 2011;124:724-730.
25. Liu J, Jia Y, Li X, et al. Serum interleukin-10 levels and adverse events in patients with acute coronary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Chinese medical journal* 2014;127:150-156.
26. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *The New England journal of medicine* 1999;340:115-126.
27. Wong BW, Meredith A, Lin D, McManus BM. The Biological Role of Inflammation in Atherosclerosis. *CJCA* 2012.
28. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of clinical periodontology* 2013;40 Suppl 1:S1-7.
29. Ceconi C, Curello S, Bachetti T, Corti A, Ferrari R. Tumor necrosis factor in congestive heart failure: a mechanism of disease for the new millennium? *Progress in cardiovascular diseases* 1998;41:25-30.
30. Cutler CW, Shinedling EA, Nunn M, et al. Association between periodontitis and hyperlipidemia: cause or effect? *J Periodontol* 1999;70:1429-1434.

Table 1. Characteristics of the study sample (n=89).

<b>Demographics/Behavioral</b>	<b>N (%)</b>
Male gender (n/%)	53 (59.6)
Smoking exposure (n/%)	
Non-smoker	35 (39.3)
Former smoker	44 (49.4)
Smoker	10 (11.2)
<b>Periodontal status</b>	<b>mean±SD</b>
Visible plaque (%)	68.2±20.1
PD (mm)	3.0±0.7
CA loss (mm)	4.8±1.6
BOP (%)	75.0±23.7
Tooth loss (number of teeth)	12.7±7.0
<b>Cardiovascular variables</b>	<b>mean±SD</b>
CRP (mg/L)	4.50±5.25
Triglycerides (mg/dl)	174.68±125.51
Total cholesterol (mg/dl)	166.79±30.62
LDL-C (mg/dl)	89.51±28.19
HDL-C (mg/dl)	42.34±12.80
Glucose (mg/dl)	122.76±46.96
Glycated hemoglobin (%)	6.98±2.07
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	27.84±4.56
<b>Cytokines</b>	<b>mean±SD</b>
IFN $\gamma$ (pg/ $\mu$ L)	5.27±9.65
IL-10 (pg/ $\mu$ L)	4.80±13.10
IL-1 $\beta$ (pg/ $\mu$ L)	1.27±2.82
IL-6 (pg/ $\mu$ L)	2.80±2.61
IL-8 (pg/ $\mu$ L)	6.65±5.69
TNF $\alpha$ (pg/ $\mu$ L)	10.09±5.87

Table 2. Multiple linear regression models of the association between periodontal status and serum cytokines (log transformed) adjusting for gender, body mass index and smoking exposure.

Cytokine	Mean CA loss			Mean PD			Teeth with CA loss $\geq 6$ mm			Teeth with PD $\geq 6$ mm		
	beta $\pm$ SE	R <sup>2</sup>	p	beta $\pm$ SE	R <sup>2</sup>	p	beta $\pm$ SE	R <sup>2</sup>	p	beta $\pm$ SE	R <sup>2</sup>	p
IFN $\gamma$	0.02 $\pm$ 0.02	0.03	0.31	0.05 $\pm$ 0.04	0.04	0.17	<b>0.02<math>\pm</math>0.01</b>	<b>0.07</b>	<b>0.04</b>	<b>0.01<math>\pm</math>0.01</b>	<b>0.06</b>	<b>0.04</b>
IL-10	<b>0.07<math>\pm</math>0.03</b>	<b>0.05</b>	<b>0.04</b>	<b>0.12<math>\pm</math>0.06</b>	<b>0.06</b>	<b>0.04</b>	0.02 $\pm$ 0.01	0.04	0.09	0.03 $\pm$ 0.02	0.05	0.07
IL-1 $\beta$	0.001 $\pm$ 0.03	0.03	0.90	0.002 $\pm$ 0.06	0.03	0.97	-0.01 $\pm$ 0.01	0.04	0.49	-0.01 $\pm$ 0.02	0.03	0.59
IL-6	0.02 $\pm$ 0.02	0.02	0.30	0.03 $\pm$ 0.04	0.02	0.39	0.003 $\pm$ 0.01	0.01	0.74	0.01 $\pm$ 0.01	0.02	0.59
IL-8	0.01 $\pm$ 0.02	0.05	0.57	-0.03 $\pm$ 0.03	0.06	0.43	0.01 $\pm$ 0.01	0.05	0.46	-0.01 $\pm$ 0.01	0.06	0.43
TNF $\alpha$	<b>0.02<math>\pm</math>0.01</b>	<b>0.07</b>	<b>0.04</b>	0.02 $\pm$ 0.02	0.04	0.46	-0.001 $\pm$ 0.01	0.03	0.89	-0.002 $\pm$ 0.01	0.03	0.69

\* Bold numbers indicate statistical significance (p<0.05)



Table 3. Multiple linear regression models of the association between clinical attachment loss and serum cytokines (log transformed) adjusting for gender, body mass index and smoking exposure and according to triglycerides control.

Number of teeth with CA loss $\geq 6$ mm						
Cytokine	Triglycerides $\geq 150$ mg/dL			Triglycerides $< 150$ mg/dL		
	beta $\pm$ SE	R <sup>2</sup>	p	beta $\pm$ SE	R <sup>2</sup>	p
IFN $\gamma$	<b>0.04<math>\pm</math>0.02</b>	<b>0.19</b>	<b>0.02</b>	0.01 $\pm$ 0.01	0.08	0.33
IL-10	0.01 $\pm$ 0.02	0.02	0.72	<b>0.03<math>\pm</math>0.01</b>	<b>0.10</b>	<b>0.04</b>
IL-1 $\beta$	<b>0.06<math>\pm</math>0.03</b>	<b>0.10</b>	<b>0.04</b>	0.01 $\pm$ 0.01	0.17	0.47
IL-6	0.001 $\pm$ 0.01	0.04	0.93	0.003 $\pm$ 0.01	0.03	0.75
IL-8	0.001 $\pm$ 0.01	0.18	0.93	0.01 $\pm$ 0.01	0.06	0.41
TNF $\alpha$	0.01 $\pm$ 0.01	0.24	0.37	0.001 $\pm$ 0.01	0.04	0.79

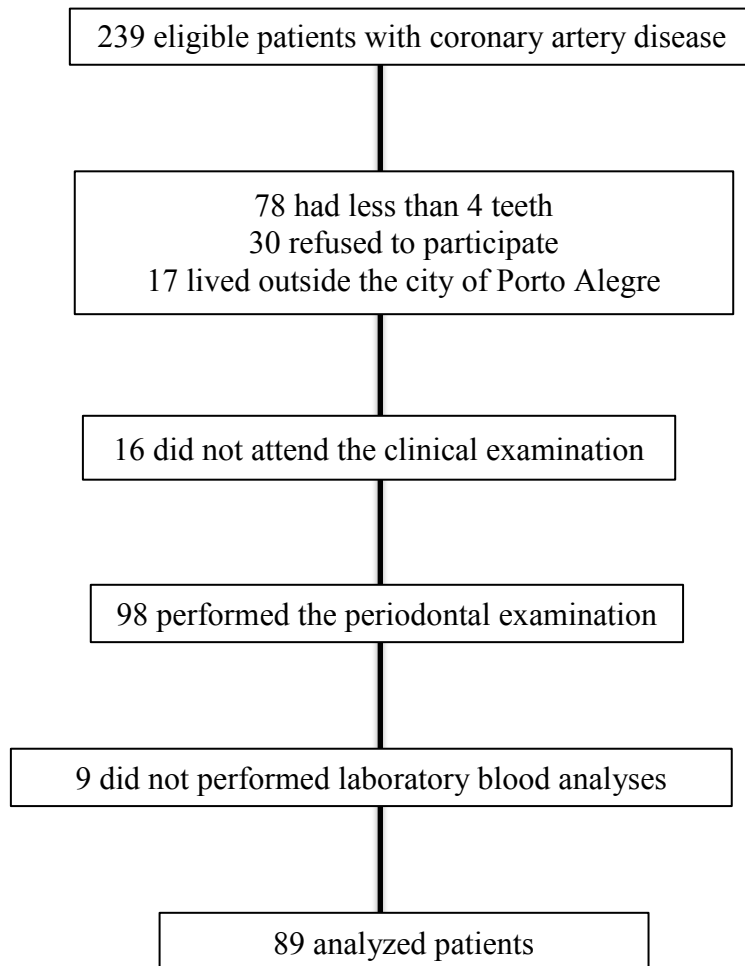
\* Bold numbers indicate statistical significance (p<0.05)

Table 4. Diagnostic tests of severe periodontitis as predictor of cytokines concentrations above the median (95% confidence interval in parentheses).

	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
IFN $\gamma$	84.4 (70.5-93.5)	31.8 (18.6-47.6)	55.9 (43.3-67.9)	66.7 (43.0-85.4)
IL-10	77.8 (62.9-88.8)	25.0 (13.2-40.3)	51.5 (39.0-63.8)	52.4 (29.8-74.3)
IL-1 $\beta$	73.5 (58.9-85.1)	20.0 (9.1-35.6)	52.9 (40.4-65.2)	38.1 (18.1-61.6)
IL-6	77.8 (62.9-88.8)	25.0 (13.2-40.3)	51.5 (39.0-63.8)	52.4 (29.8-74.3)
IL-8	82.6 (68.6-92.2)	30.2 (17.2-46.1)	55.9 (43.3-67.9)	61.9 (38.4-81.9)
TNF $\alpha$	77.8 (62.9-88.8)	25.0 (13.2-40.3)	51.5 (39.0-63.8)	52.4 (29.8-74.3)

**Figure legends**

Figure 1. Flowchart of the study sample.



## 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo observacional transversal, 89 pacientes cardiopatas crônicos que estavam em acompanhamento cardiológico no Ambulatório de Cardiopatia Isquêmica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre há pelo menos 6 meses foram analisados. Exames periodontais completos foram realizados e vários parâmetros clínicos foram definidos para serem correlacionados com a concentração de citocinas sanguíneas. Estas citocinas foram quantificadas pela metodologia Multiplex. Estes aspectos metodológicos são importantes para o entendimento dos resultados e para uma análise comparativa com a literatura.

Em suma, observou-se que a periodontite está associada a marcadores inflamatórios sistêmicos em pacientes com doença arterial coronariana crônica. Especificamente, pior condição periodontal mensurada por perda de inserção e profundidade de sondagem fora associada com maiores concentrações sanguíneas de IFN- $\gamma$ , IL-10 e TNF- $\alpha$ . Além disso, a associação foi modificada quando controlada por triglicerídeos.

No presente estudo houve uma direta e significativa associação entre as médias de perda de inserção e de profundidade de sondagem com níveis sistêmicos de IL-10. Há controvérsia na literatura quando se trata do papel da IL-10 na cascata de eventos cardiovasculares. Alguns estudos indicam que concentrações elevadas de IL-10 apresentam um efeito protetivo ao infarto do miocárdio (Heeschen et al. 2003; Smith et al. 2001). Estudos observacionais longitudinais (Målarstig et al. 2008; Cavusoglu et al. 2011) demonstraram que elevados níveis sistêmicos basais de IL-10 aumentam o risco para infarto. Finalmente, uma meta-análise conduzida por Liu et al., (2014) demonstraram que elevados níveis sistêmicos de IL-10 foram significativamente associados com novos eventos cardiovasculares ao longo do tempo em pacientes com síndrome aguda coronariana. Considerando estas evidências e os nossos achados, parece que a periodontite tem um efeito prejudicial na aterosclerose por elevar os níveis de IL-10.

IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  são citocinas pró-aterogênicas (Ross, 1999). IFN- $\gamma$  atua nas células musculares lisas, influenciando a composição e estabilidade da placa ateromatosa, por inibição da produção de colágeno e proliferação das

células musculares lisas (Wong et al. 2012). Enquanto, TNF- $\alpha$  estimula a produção de IL-6 (Ceconi et al. 1998). No presente estudo, parâmetros inflamatórios e de destruição periodontal foram significativamente associados a IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Estes achados indicam que a periodontite pode agir no início do evento aterogênico em pacientes cardiovasculares por aumentar os níveis sistêmicos de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ .

Por outro lado, na presente amostra de pacientes cardiovasculares não foi possível observar associação entre doença periodontal e níveis sistêmicos de IL-6. Esta citocina pró-inflamatória está diretamente envolvida na produção hepática de PCR (Ridker e Lüscher, 2014). Embora a PCR seja mais usada na prática clínica, estudos epidemiológicos sobre IL-6 apresentam evidências concretas na literatura de um forte valor de predição para futuros eventos cardiovasculares (Kaptoge et al., 2014).

No presente estudo em pacientes cardiopatas, a concentração de triglicerídeos apresentou um efeito modificador na associação entre a destruição tecidual periodontal e algumas citocinas. Os efeitos inflamatórios sistêmicos da perda de inserção periodontal na IFN- $\gamma$  e IL-1 $\beta$  foram somente significativos em pacientes com altos níveis de triglicerídeos, mesmo após o controle para gênero, índice de massa corpórea e fumo. Já a IL-10 somente fora associada com número de dentes com PI  $\geq$  6mm em pacientes com baixos níveis de triglicerídeos. Achados anteriores sugerem algum efeito modulador de elevados níveis de triglicerídeos na produção de algumas citocinas quando estimulados com LPS de *P. gingivalis* (Cutler et al., 1999). Estes achados indicam que o efeito da periodontite na inflamação sistêmica pode variar nos diferentes níveis de controle da doença cardiovascular.

No presente estudo, o diagnóstico de periodontite severa foi correlacionado com concentrações de citocinas acima da mediana através do cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos. Usando esta estratégia analítica, foi observado que o exame periodontal para definir a presença de periodontite pode ser recomendado devido a uma sensibilidade próxima a 80%, indicando que a presença da periodontite estará frequentemente relacionada com concentração das citocinas acima da mediana. Por outro lado, com o diagnóstico de periodontite já estabelecido, a probabilidade de predição de concentrações acima da

mediana foi baixo e entre 51.5 e 55.9 (valores preditivos positivos). Com o diagnóstico de ausência de periodontite, a predição de baixos níveis de IFN- $\gamma$  foi melhor (66.7) quando comparada as outras citocinas.

Os resultados das análises estratificadas conduzidas para este estudo devem ser interpretadas com cautela, visto a perda de poder estatístico. Uma limitação do estudo se refere ao desenho transversal que impossibilita a inferência de causalidade para as associações. Outro fator é que a maioria dos indivíduos incluídos no estudo tinham mais de 60 anos e isto deve ser levado em consideração quando extrapolarmos os achados estatísticos.

Cabe-se salientar que este estudo aplicou metodologia bem estabelecida que suporta estes achados. A respeito disso, as citocinas foram mensuradas usando a plataforma multiplex que permite rapidez, reprodutibilidade e precisão na quantificação dos biomarcadores sanguíneos. A análise foi controlada para eventuais fatores de confusão nos modelos multivariados. Além disso, o exame periodontal foi conduzido em seis sítios por dente, evitando possíveis vieses. Também uma ampla variedade de parâmetros periodontais foram usados para definirmos a condição periodontal e assim associarmos com as citocinas a nível sanguíneo.

Pode-se concluir que a doença periodontal está associada com inflamação sistêmica aumentada em pacientes cardiopatas. Perda de inserção e profundidade de sondagem foram associados com altos níveis de IFN- $\gamma$ , IL-10 e TNF- $\alpha$  mesmo após o controle para confundidores importantes. Estes achados provém evidência adicional para suportar a doença periodontal como um fator de prognóstico em pacientes cardiopatas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrukhov, Oleh, Christian Ulm, Helga Reischl, Phuong Quyhn Nguyen, Michael Matejka, and Xiaohui Rausch-Fan. 2011. "Serum Cytokine Levels in Periodontitis Patients in Relation to the Bacterial Load." *Journal of Periodontology* 82 (6): 885–92. doi:10.1902/jop.2010.100425.
- Annals of Periodontology / the American Academy of Periodontology*. 1996. "Consensus Report. Periodontal Diseases: Epidemiology and Diagnosis." 1 (1): 216–22. doi:10.1902/annals.1996.1.1.216.
- Apostolakis, Stavros, Konstantina Vogiatzi, Virginia Amanatidou, and Demetrios A Spandidos. 2009. "Interleukin 8 and Cardiovascular Disease", 353–60. doi:10.1093/cvr/cvp241.
- Apostolopoulos, J, P Davenport, and P G Tipping. 1996. "Interleukin-8 Production by Macrophages from Atheromatous Plaques." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 16 (8): 1007–12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8696939>.
- Azuma, M. 2006. "Fundamental Mechanisms of Host Immune Responses to Infection." *J Periodontal Res* 41 (5): 361–73. doi:10.1111/j.1600-0765.2006.00896.x.
- Beck, J D. 1998. "Risk Revisited." *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 26 (4): 220–25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9758421>.
- Bokhari, Syed a H, Ayyaz a Khan, Arshad K Butt, Mohammad Azhar, Mohammad Hanif, Mateen Izhar, and Dimitris N Tatakis. 2012. "Non-Surgical Periodontal Therapy Reduces Coronary Heart Disease Risk Markers: A Randomized Controlled Trial." *Journal of Clinical Periodontology* 39 (11): 1065–74. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01942.x.
- Bokhari, Syed Akhtar Hussain, Ayyaz Ali Khan, Arshad Kamal Butt, Mohammad Hanif, Mateen Izhar, Dimitris N Tatakis, and Mohammad Ashfaq. 2014. "Periodontitis in Coronary Heart Disease Patients: Strong Association between Bleeding on Probing and Systemic Biomarkers." *Journal of Clinical Periodontology*, June. doi:10.1111/jcpe.12284.
- Buhlin, Kåre, Margareta Hultin, Ola Norderyd, Lena Persson, Alan Graham Pockley, Per Rabe, Björn Klinge, and Anders Gustafsson. 2009. "Risk Factors for Atherosclerosis in Cases with Severe Periodontitis." *Journal of Clinical Periodontology* 36 (7): 541–49. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01430.x.
- Cavusoglu, Erdal, Jonathan D Marmur, Mohammad R Hojjati, Vineet Chopra, Mitul Butala, Rakesh Subnani, Mohammad S Huda, et al. 2011. "Plasma Interleukin-10 Levels and Adverse Outcomes in Acute Coronary Syndrome." *The American Journal of Medicine* 124 (8): 724–30. doi:10.1016/j.amjmed.2011.02.040.

- Ceconi, C, S Curello, T Bachetti, A Corti, and R Ferrari. 1998. "Tumor Necrosis Factor in Congestive Heart Failure: A Mechanism of Disease for the New Millennium?" *Progress in Cardiovascular Diseases* 41 (1 Suppl 1): 25–30.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9715820>.
- Cutler, C W, E A Shinedling, M Nunn, R Jotwani, B O Kim, S Nares, and A M Iacopino. 1999. "Association between Periodontitis and Hyperlipidemia: Cause or Effect?" *J Periodontol* 70 (12): 1429–34. doi:10.1902/jop.1999.70.12.1429.
- Danesh, John, Stephen Kaptoge, Andrea G Mann, Nadeem Sarwar, Angela Wood, Sara B Angleman, Frances Wensley, et al. 2008. "Long-Term Interleukin-6 Levels and Subsequent Risk of Coronary Heart Disease: Two New Prospective Studies and a Systematic Review." *PLoS Medicine* 5 (4): e78.  
 doi:10.1371/journal.pmed.0050078.
- DeForge, L E, J C Fantone, J S Kenney, and D G Remick. 1992. "Oxygen Radical Scavengers Selectively Inhibit Interleukin 8 Production in Human Whole Blood." *The Journal of Clinical Investigation* 90 (5): 2123–29. doi:10.1172/JCI116097.
- Dhadse, Prasad, Deepti Gattani, and Rohit Mishra. 2010. "The Link between Periodontal Disease and Cardiovascular Disease : How Far We Have Come in Last Two Decades ?" 14 (3). doi:10.4103/0972-124X.75908.
- Dorn, Joan M, Robert J Genco, Sara G Grossi, Karen L Falkner, Kathleen M Hovey, Licia Iacoviello, and Maurizio Trevisan. 2010. "Periodontal Disease and Recurrent Cardiovascular Events in Survivors of Myocardial Infarction (MI): The Western New York Acute MI Study." *Journal of Periodontology* 81 (4): 502–11.  
 doi:10.1902/jop.2009.090499.
- Eke, P I, R C Page, L Wei, G Thornton-Evans, and R J Genco. 2012. "Update of the Case Definitions for Population-Based Surveillance of Periodontitis." *J Periodontol* 83 (12): 1449–54. doi:10.1902/jop.2012.110664.
- Feng, Z, and A Weinberg. 2006. "Role of Bacteria in Health and Disease of Periodontal Tissues." *Periodontol 2000* 40: 50–76. doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00148.x.
- Fiorentino, D F, M W Bond, and T R Mosmann. 1989. "Two Types of Mouse T Helper Cell. IV. Th2 Clones Secrete a Factor That Inhibits Cytokine Production by Th1 Clones." *The Journal of Experimental Medicine* 170 (6): 2081–95.  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2189521&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Flores, Manuela F, Marlon M Montenegro, Mariana V Furtado, Carisi A Polanczyk, Cassiano K Rösing, and Alex N Haas. 2014. "Periodontal Status Affects C-Reactive Protein and Lipids in Patients with Stable Heart Disease from a Tertiary Care Cardiovascular Clinic." *Journal of Periodontology* 85 (4): 545–53.  
 doi:10.1902/jop.2013.130255.



- Gemmell, E, R I Marshall, and G J Seymour. 1997. "Cytokines and Prostaglandins in Immune Homeostasis and Tissue Destruction in Periodontal Disease." *Periodontol 2000* 14: 112–43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9567968>.
- Gocke, Christiane, Birte Holtfreter, Peter Meisel, Anne Grotevendt, Lukasz Jablonowski, Matthias Nauck, Marcello Ricardo Paulista Markus, and Thomas Kocher. 2014. "Abdominal Obesity Modifies Long-Term Associations between Periodontitis and Markers of Systemic Inflammation." *Atherosclerosis* 235 (2). Elsevier Ltd: 351–57. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.05.926.
- Górska, Renata, Hanna Gregorek, Jan Kowalski, Agnieszka Laskus-Perendyk, Małgorzata Syczewska, and Kazimierz Madaliński. 2003. "Relationship between Clinical Parameters and Cytokine Profiles in Inflamed Gingival Tissue and Serum Samples from Patients with Chronic Periodontitis." *Journal of Clinical Periodontology* 30 (12): 1046–52. doi:10.1046/j.0303-6979.2003.00425.x.
- Graves, D T, and D Cochran. 2003. "The Contribution of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor to Periodontal Tissue Destruction." *J Periodontol* 74 (3): 391–401. doi:10.1902/jop.2003.74.3.391.
- Groyer, Emilie, Giuseppina Caligiuri, Jamila Laschet-Khallou, and Antonino Nicoletti. 2006. "[Immunological Aspects of Atherosclerosis]." *Presse Médicale (Paris, France : 1983)* 35 (3 Pt 2): 475–86. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16550147>.
- Haffajee, Anne D, and Sigmund S Socransky. 2005. "Microbiology of Periodontal Diseases: Introduction." *Periodontology 2000* 38 (January): 9–12. doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00112.x.
- Haraszthy, V I, J J Zambon, M Trevisan, M Zeid, and R J Genco. 2000. "Identification of Periodontal Pathogens in Atheromatous Plaques." *Journal of Periodontology* 71 (10): 1554–60.
- Heeschen, Christopher, Stefanie Dimmeler, Christian W Hamm, Stephan Fichtlscherer, Eric Boersma, Maarten L Simoons, and Andreas M Zeiher. 2003. "Serum Level of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Is an Important Prognostic Determinant in Patients with Acute Coronary Syndromes." *Circulation* 107 (16): 2109–14. doi:10.1161/01.CIR.0000065232.57371.25.
- Higashi, Yukihiro, Chikara Goto, Takayuki Hidaka, Junko Soga, Shuji Nakamura, Yuichi Fujii, Takaki Hata, et al. 2009. "Oral Infection-Inflammatory Pathway, Periodontitis, Is a Risk Factor for Endothelial Dysfunction in Patients with Coronary Artery Disease." *Atherosclerosis* 206 (2): 604–10. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2009.03.037.
- Hou, Lein-Tuan, Cheing-Meei Liu, Bu-Yuan Liu, Shih-Jung Lin, Chia-Shih Liao, and Edward F Rossomando. 2003. "Interleukin-1beta, Clinical Parameters and Matched Cellular-Histopathologic Changes of Biopsied Gingival Tissue from Periodontitis Patients." *Journal of Periodontal Research* 38 (3): 247–54. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12753361>.

- Hupp, James R. 2006. "Ischemic Heart Disease : Dental Management Considerations." *The Dental Clinics of North America* 50: 483–91. doi:10.1016/j.cden.2006.06.002.
- Iwata, Hiroshi, and Ryoza Nagai. 2012. "Novel Immune Signals and Atherosclerosis." *Current Atherosclerosis Reports* 14 (5): 484–90. doi:10.1007/s11883-012-0267-7.
- Kaptoge, Stephen, Sreenivasa Rao Kondapally Seshasai, Pei Gao, Daniel F Freitag, Adam S Butterworth, Anders Borglykke, Emanuele Di Angelantonio, et al. 2014. "Inflammatory Cytokines and Risk of Coronary Heart Disease: New Prospective Study and Updated Meta-Analysis." *European Heart Journal* 35 (9): 578–89. doi:10.1093/eurheartj/eh367.
- Karnoutsos, K, P Papastergiou, S Stefanidis, and A Vakaloudi. 2008. "Periodontitis as a Risk Factor for Cardiovascular Disease : The Role of Anti-Phosphorylcholine and Anti-Cardiolipin Antibodies", 144–49.
- Koppolu, P, S Durvasula, R Palaparthi, M Rao, V Sagar, S K Reddy, and S Lingam. 2013. "Estimate of CRP and TNF-Alpha Level before and after Periodontal Therapy in Cardiovascular Disease Patients." *Pan Afr Med J* 15: 92. doi:10.11604/pamj.2013.15.92.2326.
- Leonard, E J, and T Yoshimura. 1990. "Human Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)." *Immunology Today* 11 (3): 97–101. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2186747>.
- Li, X, H F Tse, and L J Jin. 2011. "Novel Endothelial Biomarkers: Implications for Periodontal Disease and CVD." *Journal of Dental Research* 90 (9): 1062–69. doi:10.1177/0022034510397194.
- Libby, P. 1995. "Molecular Bases of the Acute Coronary Syndromes." *Circulation* 91 (11): 2844–50. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7758192>.
- Libby, Peter. 2002. "Inflammation in Atherosclerosis." *Nature* 420 (December): 868–74.
- Lindhe, J, S E Hamp, and H Löe. 1975. "Plaque Induced Periodontal Disease in Beagle Dogs. A 4-Year Clinical, Roentgenographical and Histometrical Study." *Journal of Periodontal Research* 10 (5): 243–55. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/129548>.
- Liu, Jun, Yanjun Jia, Xiaolin Li, Ruixia Xu, Chenggang Zhu, Yuanlin Guo, Naqiong Wu, and Jianjun Li. 2014. "Serum Interleukin-10 Levels and Adverse Events in Patients with Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Chinese Medical Journal* 127 (1): 150–56. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24384441>.
- Lockhart, P B, A F Bolger, P N Papapanou, O Osinbowale, M Trevisan, M E Levison, K A Taubert, et al. 2012. "Periodontal Disease and Atherosclerotic Vascular Disease: Does the Evidence Support an Independent Association?: A Scientific



- Statement from the American Heart Association." *Circulation* 125 (20): 2520–44. doi:10.1161/CIR.0b013e31825719f3.
- Lockhart, Peter B, Michael T Brennan, Howell C Sasser, Philip C Fox, Bruce J Paster, and Farah K Bahrani-Mougeot. 2008. "Bacteremia Associated with Toothbrushing and Dental Extraction." *Circulation* 117 (24): 3118–25. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.758524.
- Lockhart, Peter B, Michael T Brennan, Martin Thornhill, Bryan S Michalowicz, Jenene Noll, Farah K Bahrani-Mougeot, and Howell C Sasser. 2009. "Poor Oral Hygiene as a Risk Factor for Infective Endocarditis-Related Bacteremia." *Journal of the American Dental Association (1939)* 140 (10): 1238–44. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2770162&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Loos, B G, J Craandijk, F J Hoek, P M Wertheim-van Dillen, and U van der Velden. 2000. "Elevation of Systemic Markers Related to Cardiovascular Diseases in the Peripheral Blood of Periodontitis Patients." *Journal of Periodontology* 71 (10): 1528–34. doi:10.1902/jop.2000.71.10.1528.
- Lowe, Gordon D O. 2001. "The Relationship Between Infection , Inflammation , and Cardiovascular Disease : An Overview." *Ann Periodontol* 6: 1–8.
- Målarstig, a, P Eriksson, a Hamsten, B Lindahl, L Wallentin, and a Siegbahn. 2008. "Raised Interleukin-10 Is an Indicator of Poor Outcome and Enhanced Systemic Inflammation in Patients with Acute Coronary Syndrome." *Heart (British Cardiac Society)* 94 (6): 724–29. doi:10.1136/hrt.2007.119271.
- Montebugnoli, L, D Servidio, R a Miaton, C Prati, P Tricoci, C Melloni, and G Melandri. 2005. "Periodontal Health Improves Systemic Inflammatory and Haemostatic Status in Subjects with Coronary Heart Disease." *Journal of Clinical Periodontology* 32 (2): 188–92. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00641.x.
- Monteiro, Andréa M, Maria A N Jardini, Sarah Alves, Viviana Giampaoli, Elisete C Q Aubin, Antônio M Figueiredo Neto, and Magnus Gidlund. 2009. "Cardiovascular Disease Parameters in Periodontitis." *Journal of Periodontology* 80 (3): 378–88. doi:10.1902/jop.2009.080431.
- Nunn, Martha E. 2003. "Understanding the Etiology of Periodontitis: An Overview of Periodontal Risk Factors." *Periodontology 2000* 32 (January): 11–23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12756030>.
- Page, Roy C, and Paul I Eke. 2007. "Case Definitions for Use in of Periodontitis" 2007 (February 2003). doi:10.1902/jop.2007.060264.
- Paraskevas, Spiros, John D Huizinga, and Bruno G Loos. 2008. "A Systematic Review and Meta-Analyses on C-Reactive Protein in Relation to Periodontitis." *Journal of Clinical Periodontology* 35 (4): 277–90. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01173.x.

- Piegas, Leopoldo S., Álvaro Avezum, Júlio César R Pereira, João Manuel Rossi Neto, Clóvis Hoepfner, Jorge A. Farran, Rui F. Ramos, Ari Timerman, and José Péricles Esteves. 2003. "Risk Factors for Myocardial Infarction in Brazil." *American Heart Journal* 146 (2): 331–38.
- Potteaux, Stéphane, Bruno Esposito, Olivia Van Oostrom, Valérie Brun, Patrice Ardouin, Alain Tedgui, and Ziad Mallat. 2004. "The Online Version of This Article, along with Updated Information and Services, Is Located on the World Wide Web At:", 1474–78. doi:10.1161/01.ATV.0000134378.86443.cd.
- Rastogi, P, R Singhal, A Sethi, A Agarwal, V K Singh, and R Sethi. 2012. "Assessment of the Effect of Periodontal Treatment in Patients with Coronary Artery Disease : A Pilot Survey." *J Cardiovasc Dis Res* 3 (2): 124–27. doi:10.4103/0975-3583.95366.
- Renvert, Stefan, Ola Ohlsson, Thomas Pettersson, and G Rutger Persson. 2010. "Periodontitis: A Future Risk of Acute Coronary Syndrome? A Follow-up Study over 3 Years." *Journal of Periodontology* 81 (7): 992–1000. doi:10.1902/jop.2010.090105.
- Ridker, Paul M, and Thomas F Lüscher. 2014. "Anti-Inflammatory Therapies for Cardiovascular Disease." *European Heart Journal* 35 (27): 1782–91. doi:10.1093/eurheartj/ehu203.
- Ross, R. 1999. "Atherosclerosis--an Inflammatory Disease." *The New England Journal of Medicine* 340 (2): 115–26. doi:10.1056/NEJM199901143400207.
- Ross, R, and J A Glomset. 1973. "Atherosclerosis and the Arterial Smooth Muscle Cell: Proliferation of Smooth Muscle Is a Key Event in the Genesis of the Lesions of Atherosclerosis." *Science (New York, N.Y.)* 180 (4093): 1332–39. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4350926>.
- Rus, H G, R Vlaicu, and F Niculescu. 1996. "Interleukin-6 and Interleukin-8 Protein and Gene Expression in Human Arterial Atherosclerotic Wall." *Atherosclerosis* 127 (2): 263–71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9125317>.
- Slots, J, and M Ting. 1999. "Actinobacillus Actinomycetemcomitans and Porphyromonas Gingivalis in Human Periodontal Disease: Occurrence and Treatment." *Periodontology 2000* 20 (July): 82–121. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10522224>.
- Smith, D A, S D Irving, J Sheldon, D Cole, and J C Kaski. 2001. "Serum Levels of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Are Decreased in Patients with Unstable Angina." *Circulation* 104 (7): 746–49. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11502695>.
- Tang, K, M Lin, Y Wu, and F Yan. 2011. "Alterations of Serum Lipid and Inflammatory Cytokine Profiles in Patients with Coronary Heart Disease and Chronic Periodontitis: A Pilot Study." *The Journal of International Medical Research* 39 (1): 238–48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21672327>.

- Teeuw, Wijnand J, Dagmar E Slot, Hendri Susanto, Victor E A Gerdes, Frank Abbas, Francesco D'Aiuto, John J P Kastelein, and Bruno G Loos. 2014. "Treatment of Periodontitis Improves the Atherosclerotic Profile: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of Clinical Periodontology* 41 (1): 70–79. doi:10.1111/jcpe.12171.
- Teles, R, and C-Y Wang. 2011. "Mechanisms Involved in the Association between Periodontal Diseases and Cardiovascular Disease." *Oral Diseases* 17 (5): 450–61. doi:10.1111/j.1601-0825.2010.01784.x.
- Trinchieri, G. 2003. "Interleukin-12 and the Regulation of Innate Resistance and Adaptive Immunity." *Nat Rev Immunol* 3 (2): 133–46. doi:10.1038/nri1001.
- Trinchieri, Giorgio, Stefan Pflanz, and Robert A Kastelein. 2003. "The IL-12 Family of Heterodimeric Cytokines: New Players in the Regulation of T Cell Responses." *Immunity* 19 (5): 641–44. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14614851>.
- Vidal, Fábio, Ivan Cordovil, Carlos Marcelo Silva Figueredo, and Ricardo Guimarães Fischer. 2013. "Non-Surgical Periodontal Treatment Reduces Cardiovascular Risk in Refractory Hypertensive Patients: A Pilot Study." *Journal of Clinical Periodontology* 40 (7): 681–87. doi:10.1111/jcpe.12110.
- Vidal, Fábio, Carlos Marcelo S Figueredo, Ivan Cordovil, and Ricardo G Fischer. 2009. "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* 80 (5): 786–91. doi:10.1902/jop.2009.080471.
- Wong, Brian W, Anna Meredith, David Lin, and Bruce M Mcmanus. 2012. "The Biological Role of Inflammation in Atherosclerosis." *CJCA*. Canadian Cardiovascular Society. doi:10.1016/j.cjca.2012.06.023.
- Ying Ouyang, Xiang, Wen Mei Xiao, Yi Chu, and Shuang Ying Zhou. 2011. "Influence of Periodontal Intervention Therapy on Risk of Cardiovascular Disease." *Periodontology 2000* 56 (1): 227–57. doi:10.1111/j.1600-0757.2010.00368.x.
- Yudkin, John S, Meena Kumari, Steve E Humphries, and Vidya Mohamed-ali. 2000. "Inflammation , Obesity , Stress and Coronary Heart Disease : Is Interleukin-6 the Link ?" 148: 209–14.

## ANEXOS

# ANEXO 1 - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

	<b>UFRGS</b> UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	<b>PRÓ-REITORIA DE PESQUISA</b> Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs	
---	--	---	---

**CARTA DE APROVAÇÃO**

**Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs analisou o projeto:**


**Número:** 18341  
**Título:** ESTUDOS SOBRE A RELAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E DOENÇA CARDIOVASCULAR

**Pesquisadores:**  
**Equipe UFRGS:**

CASSIANO KUCHENBECKER ROSING - coordenador desde 01/06/2010  
ALEX NOGUEIRA HAAS - coordenador desde 01/06/2010  
CARISI ANNE POLANCZYK - pesquisador desde 01/06/2010  
MARIANA VARGAS FURTADO - Aluno de Doutorado desde 01/06/2010  
Márlon Munhoz Montenegro - Aluno de Mestrado desde 01/06/2010  
Manuela Furtado Flores - Aluno de Mestrado desde 01/06/2010

**Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs aprovou o mesmo, em reunião realizada em 16/09/2010 - Sala de Reuniões do Gabinete do Reitor (Ex Salão Vermelho) - Prédio Reitoria, 6º andar, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.**

Porto Alegre, Quinta-Feira, 16 de Setembro de 2010

  
JOSE ARTUR BOGO CHIES  
Coordenador da comissão de ética

1

## ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Caro participante,

Estamos realizando um estudo para avaliar a relação entre doenças de gengiva e do coração. O estudo está sendo realizado por professores e pesquisadores das Faculdade de Odontologia e de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em conjunto com o Hospital de Clínicas de Porto Alegre. As pessoas a participarem do estudo são aqueles pacientes que estão em acompanhamento no Ambulatório de Cardiopatia Isquêmica Crônica.

Durante a pesquisa, serão realizados exames bucais avaliando a presença de doenças de gengiva. Além disso, será realizada uma entrevista sobre dados pessoais, socioeconômicos e comportamentais. Estes dados serão cruzados com os dados médicos presentes no prontuário do Ambulatório CPI onde você é atendido para seu problema cardíaco.

Juntamente com os exames clínicos bucais serão realizados exames laboratoriais comumente utilizados para a avaliação de substâncias relacionadas a doenças cardíacas. Será feita a coleta de 15mL de sangue para a avaliação de colesterol, HDL/LDL, triglicerídeos, proteína C-reativa, hemoglobina glicada e glicemia em jejum. Essa coleta de sangue será realizada após os exames bucais.

Os possíveis desconfortos associados à participação neste estudo são aqueles decorrentes da realização de um exame bucal e da coleta de sangue. Todas as medidas de biossegurança necessárias tais como uso de materiais descartáveis e instrumentais esterilizados, serão adotadas. Adicionalmente toda e qualquer ocorrência durante o tratamento estará sendo avaliada.

Os benefícios relacionados à participação neste estudo são o diagnóstico de problemas de gengiva, bem como encaminhamento para o tratamento de outras condições bucais, quando necessário. Fica ainda assegurado o direito ao sigilo de todas informações coletadas, não sendo permitido acesso por outra pessoa que não o próprio participante ou responsável.

Fica, ainda, assegurada a liberdade dos participantes de recusarem-se a participar ou retirarem-se do estudo a qualquer momento que desejarem, sem que isso traga prejuízos na assistência médica. A continuidade do tratamento



da doença gengival será garantida mesmo que os participantes desejem se retirar do estudo.

Toda e qualquer dúvida no decorrer do estudo poderá ser esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa através dos telefones (51) 3308.5318 e (51) 9122.2377. Os pesquisadores Cassiano Rösing, Alex Haas e Carisi Polanczyk estarão sempre a disposição para esclarecimentos. Possíveis problemas podem ser reportados diretamente ao Comitê de Ética Central da UFRGS 3308.3629 ou Comitê de Ética do HCPA 33597640.

Eu, \_\_\_\_\_ (participante), declaro que fui informado dos objetivos e procedimentos que serão realizados nesta pesquisa, bem como sei dos meus direitos e dos deveres dos pesquisadores. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo.

\_\_\_\_\_  
Participante/RG:

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

\_\_\_\_\_  
Pesquisador

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

## ANEXO 3– ENTREVISTA

Data / /     Setor censitário   REGISTRO Nº

Entrevistador     Outro.....

## DADOS PESSOAIS

1.1. Nome..... 1.2. Endereço.....

1.3. Telefone res. ( )..... 1.4. Telefone cel. ( )..... 1.5. E-mail.....

1.6. Contato familiar..... 1.7. Telefone res. ( )..... 1.8. Telefone cel. ( ).....

1.9. Sexo  Masculino  Feminino 1.10. Data de nascimento / /

1.11. Idade  anos 1.12. Raça  Branca  Negra/Preta  Parda/Mulata  Amarela  Indígena

1.13. Estado civil  Solteiro(a)  Casado(a)/União estável  Divorciado(a)  Viúvo(a)  Outro.....

## CARACTERIZAÇÃO SOCIOECONÔMICA

2.1. Você é alfabetizado(a)?  Sim  Não

2.2. Você estudou até:  Nunca estudou  1ª a 4ª série do 1º grau  5ª a 8ª série do 1º grau  2º grau incompleto  
 2º grau completo  3º grau incompleto  3º grau completo  Pós-graduação

2.3. Quantas pessoas, incluindo você, residem nesta casa?   2.4. Acima de 35 anos?

2.5. Quantos cômodos estão servindo permanentemente de dormitório para os moradores desta casa?

Quantos...você possui? (Não possui = 0 / 1 / 2 / 3 / 4 ou mais = 4)

2.6. Aspiradores de pó	2.12. Máquinas de lavar roupas
2.7. Automóveis	2.13. Microondas
2.8. Banheiros	2.14. Rádios
2.9. Computadores	2.15. Refrigeradores
2.10. Empregadas (pagamento mensal)	2.16. Televisores coloridos
2.11. Freezer (considerar um refrigerador duplex)	2.17. Videocassetes / DVDs

2.18. No mês passado, quanto receberam, em reais, juntas, todas as pessoas que moram na sua casa?

Até 250  251 a 480  481 a 1500  1501 a 2500  2501 a 4500  4501 a 9500  Mais de 9500  Não sabe  
 Não respondeu

## HISTÓRIA MÉDICA

Você apresenta alguma das seguintes doenças? (Sim = 1 / Não = 2 / Não sabe = 3)

3.1. Artrite reumatóide	3.3. Osteoporose	3.5. Doença cardíaca ou arterial
3.2. Diabetes	3.4. Refluxo gástrico	

3.6. Você está usando alguma medicação?  Sim  Não

3.7. Qual?.....

3.8. Você tem amigdalite?  Nunca  Menos de uma vez por ano  Uma vez por ano  Mais de uma vez por ano

## FATORES COMPORTAMENTAIS

4.1. Você fuma atualmente?  Sim  Não

4.2. Quantos cigarros por dia?   4.3. Há quantos anos?

Não

4.4. Você fumou anteriormente?  Sim  Não 4.5. Quantos cigarros por dia?

4.7. Há quantos anos você parou de fumar?   4.6. Por quantos anos?

4.8. Você toma chimarrão:  Nunca  Raramente  Algumas vezes  Frequentemente

4.9. Você **ingere bebidas alcoólicas**:  1 Nunca  2 Raramente  3 Às vezes  4 Frequentemente

4.10. Qual tipo?  1 Nenhum  2 Cerveja  3 Cachaça  4 Vinho  5 Outro.....

4.11. Quantas doses/copo você **ingere por semana**?

4.12. Você **costuma apertar ou ranger os dentes**?  1 Sim  2 Não  3 Não sabe

#### HÁBITOS DE HIGIENE BUCAL

5.1. Com que **freqüência** você **escova seus dentes**?

1 Nunca escova  2 Menos de uma vez por dia  3 Uma vez por dia  4 Duas vezes por dia  5 Três vezes ou mais por dia

5.2. Qual tipo de escova você usa?  1 Não usa escova  2 Macia  3 Média  4 Dura  5 Não sabe

5.3. Você **divide a escova com alguém**?  1 Sim  2 Não

5.4. Com que **freqüência** você **limpa entre seus dentes**?

1 Nunca limpa  2 Menos de uma vez por dia  3 Uma vez por dia  4 Duas vezes por dia  5 Três vezes ou mais por dia

5.5. O que você usa para **limpar entre seus dentes**?

1 Nada  2 Palito de dentes  3 Fio dental  4 Outro.....

5.6. Com que **freqüência** você **limpa a língua**?

1 Nunca limpa  2 Menos de uma vez por dia  3 Uma vez por dia  4 Duas vezes por dia  5 Três vezes ou mais por dia

5.7. O que você usa para **limpar a língua**?

1 Nada  2 Cerdas da escova  3 Dorso da escova  4 Limpador de língua  5 Outro.....

5.8. Com que **freqüência** você usa **produto para bochecho**?

1 Nunca usa  2 Menos de uma vez por dia  3 Uma vez por dia  4 Duas vezes por dia  5 Três vezes ou mais por dia

5.9. Há **quantos anos**?

5.10. Qual **produto** você usa?

1 Nenhum  2 Cepacol  3 Listerine  4 Malva  5 Plax  6 Oral-B  7 Outro.....

5.11. O **produto apresenta álcool**?  1 Não usa  2 Sim  3 Não  4 Não sabe

5.12. Você usa o **produto para**:

1 Não usa  2 Manter dentes limpos  3 Reduzir sangramento gengival  4 Clarear dentes  5 Manter hálito fresco

#### HALITOSE

6.1. Você sente **mau hálito, mau cheiro ou gosto ruim na boca**?  1 Nunca  2 Raramente  3 Algumas vezes  4 Sempre

6.2. Em que **momento do dia**?  1 Não sente  2 Manhã  3 Tarde  4 Noite  5 Todo o dia

6.3. Você foi **avisado por alguma pessoa que você tem mau hálito**?  1 Sim  2 Não

6.4. Por **quem**?  1 Ninguém  2 Companheiro(a)  3 Familiar  4 Amigo(a)  5 Dentista

6.5. Das **pessoas que vivem na sua casa, quantas** você diria que **usualmente possuem mau hálito**?

6.6. Você sente a **boca seca**?  1 Nunca  2 Raramente  3 Algumas vezes  4 Sempre

#### HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA

7.1. Com que **freqüência** você tem **dentes sensíveis**?  1 Nunca  2 Raramente  3 Algumas vezes  4 Sempre

7.2. Em qual **situação** que é **mais freqüente**?  1 Nunca  2 Quente  3 Doce  4 Ao toque ou ao escovar  5 Ao mastigar

7.3. Considerando 0 a ausência de dor e 10 a maior dor que você já sentiu, de 0 a 10, qual a intensidade da sensibilidade que você sente nos seus dentes?

7.4. No último mês, você se sentiu incomodado(a) ao comer algum alimento por causa dos dentes sensíveis?

1 Nunca  2 Raramente  3 Algumas vezes  4 Repetidamente  5 Sempre

7.5. No último mês, você se sentiu estressado(a)/nervoso(a) por causa dos dentes sensíveis?

1 Nunca  2 Raramente  3 Algumas vezes  4 Repetidamente  5 Sempre

7.6. Você já usou/está usando pasta de dente para dentes sensíveis?  1 Sim  2 Não

#### ACESSO A SERVIÇOS ODONTOLÓGICOS

8.1. Você tem ido ao dentista nos últimos 3 anos:

1 Não tem ido  2 Quando tem dor, um dente quebrado ou outra urgência  3 Para revisar e evitar problemas futuros

8.2. De quanto em quanto tempo?

8.3. Onde foi a sua última consulta?

1 Serviço público  2 Serviço particular  3 Plano de saúde ou convênio  4 Não sabe  5 Outro.....

8.4. Você já fez tratamento gengival/periodontal?  1 Sim  2 Não

8.5. Você usa ou usou aparelho ortodôntico fixo?  1 Sim  2 Não

#### AUTOPERCEPÇÃO EM SAÚDE BUCAL

9.1. Você considera que necessita de tratamento odontológico atualmente?  1 Sim  2 Não

Nos últimos seis meses, por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentadura:

(Nunca = 0 / Raramente = 1 / Algumas vezes = 2 / Repetidamente = 3 / Sempre = 4)

9.2. Você teve problemas para falar alguma palavra?	9.9. Você teve que parar suas refeições?	
9.3. Você sentiu que o sabor dos alimentos tem piorado?	9.10. Você encontrou dificuldade para relaxar?	
9.4. Você sentiu dores na sua boca ou nos seus dentes?	9.11. Você se sentiu envergonhado(a)?	
9.5. Você se sentiu incomodado(a) ao comer algum alimento?	9.12. Você ficou irritado(a) com outras pessoas?	
9.6. Você ficou preocupado(a)?	9.13. Você teve dificuldade de realizar atividades diárias?	
9.7. Você se sentiu estressado(a)?	9.14. Você sentiu que a vida, em geral, ficou pior?	
9.8. Sua alimentação ficou prejudicada?	9.15. Você ficou totalmente incapaz de fazer suas atividades diárias?	

ANEXO 4 – FICHA PERIODONTAL

Nome \_\_\_\_\_ Examinador \_\_\_\_\_ Dia \_\_\_\_\_ Mês \_\_\_\_\_ Ano \_\_\_\_\_

Proteze (0=não agressiva; 1= total; 2=removível com estrutura metálica; 3=removível provisória; 4=desdentado sem prótese total) Alterações de mucosa (0=sem alteração; 1=edem; 2= leucopláquia; 3= líquen plano; 4= ulceração; 5= CLINA; 6= candidíase; 7= abscesso; 8= outra manifestação; 9= não examinado.

Arcada Superior = \_\_\_\_\_ Arcada Inferior = \_\_\_\_\_

CPOD: 0=saúde; 1= cárie; 2=restauração com cárie; 3=restauração sem cárie; 4=ausente por cárie; 5=ausente outra razão; 6=saúde; 7= pilar prótese fixa ou facóia; 8= não examinado)

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

IPV (0=ausente; 1= presente)

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

Fatores retentivos de placa em nível gengival (Ondas: 1=edentado; 2=restauração; 3=acridades)

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

ISG (0=ausente; 1= presente)

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

Recessão

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

PS

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

Notas (Ondas: 1= comprometimento parcial; 2= comprometimento total)

17	16	36	27	37	36	46	47
----	----	----	----	----	----	----	----