WAGNER LEAL SERRA E SILVA FILHO

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA INTERRELAÇÃO ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL E A DOENÇA ATEROSCLERÓTICA CORONARIANA OBSTRUTIVA

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica na Área de Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum

PIRACICABA
2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Si38a

Silva Filho, Wagner Leal Serra e.
Avaliação microbiológica da interrelação entre a doença periodontal e a doença aterosclerótica coronariana obstrutiva. / Wagner Leal Serra e Silva Filho. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2008.

Orientador: Antônio Wilson Sallum.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Doenças periodontais. 2. Aterosclerose. 3. Doenças cardiovasculares. I. Sallum, Antônio Wilson. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Microbiological evaluation of the relationship between periodontal disease and the obstructive atherosclerotic coronary disease
Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Periodontal diseases. 2. Atherosclerosis. 3. Cardiovascular diseases
Área de Concentração: Periodontia
Titulação: Doutor em Clínica Odontológica
Banca Examinadora: Antônio Wilson Sallum, Giorgio De Micheli, Saulo Duarte Passos, Mauro Antônio de Arruda Nóbilo, Márcio Zaffalon Casati
Data da Defesa: 10-12-2008
Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica

UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 10 de Dezembro de 2008, considerou o candidato WAGNER LEAL SERRA E SILVA FILHO aprovado.

PROF. DR. ANTONIO WILSON SALLUM

PROF. DR. GIORGIO DE MICHELI

PROF. DR. SAULO DUARTE PASSOS

PROF. DR. MAURO ANTONIO DE ARRUDA NÓBILO

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

DEDICATÓRIA

A Deus, companheiro de todas as horas. Com suas graças pude chegar até esse momento. Rogai por nós!

Aos meus pais Wagner e Graça, que me proporcionaram toda a base para enfrentar os caminhos tortuosos da vida. A educação, o carinho, o incentivo e o amor que vocês me dão são essenciais para o meu crescimento diário. Sou fruto dos exemplos que vocês me dão. Meu agradecimento eterno. Amo vocês!

Ao meu irmão Fabrício, amigo sempre. Você é um grande exemplo de determinação. Eu te amo.

À minha irmã Maíra, minha amiga. Você é especial. Eu te amo.

A minha querida avó Alba, que me acolheu tão carinhosamente em seu lar no início da minha formação profissional. Suas palavras sinceras e de incentivo foram essenciais para o meu equilíbrio.

Ao meu tio Rui, que me recebeu de braços abertos em sua casa de uma forma muito peculiar. Sua confiança e respeito serão sempre lembrados.

A minha querida namorada e amiga, Marcela. Você é muito importante na minha vida. Você me traz muita paz e cada dia mais força para enfrentar as dificuldades da vida. Eu te amo muito.

AGRADECIMENTOS

Deus todo poderoso, muito obrigado pelo dom da vida. Pela saúde, pelo amor e em especial pela família que me deste. Sem a tua presença nada conquistaria. Creio, mas aumentai sempre a minha fé!

Agradeço aos meus pais e irmãos pelo amor, confiança, respeito e força. Agradecerei a vocês eternamente.

A minha avó, Alba, e ao meu tio Rui por me tratarem como um filho durante uma fase de grandes mudanças na minha vida. Não sei como agradecer.

Aos meus avós, Maurício e Tancredo (*in memorian*), pelo exemplo de fé, de amor, de honestidade e seriedade. Obrigado pelos momentos inesquecíveis.

Aos meus tios e primos, pela força e vibração a cada conquista.

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu magnífico reitor, Prof. Dr. José Tadeu Jorge, pela excelência do ensino.

Á Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu diretor, Prof. Dr. Francisco Haiter Neto, pela estrutura oferecida para esta etapa da minha formação profissional e aos seus funcionários que, com dedicação e profissionalismo, trabalham para manter tudo em ordem.

Ao laboratório de microbiologia, pela estrutura que me foi oferecida para a realização deste trabalho.

Ao amigo, mestre e orientador, Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, muito obrigado por acreditar e confiar em mim. Não esqueço das suas palavras de apoio e incentivo quando me senti mais perdido durante esses cinco anos de convívio. Seus ensinamentos e conselhos me fizeram crescer muito como pessoa e como profissional. Obrigado por todas as oportunidades. A cada dia minha admiração e respeito aumentam. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, pelo exemplo de profissionalismo e seriedade. Obrigado pela confiança. Sua amizade é muito importante.

Ao Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati, pelos ensinamentos. Exemplo de determinação e competência. Fico extremamente feliz com nossa amizade.

Ao Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Junior, o nosso convívio me faz aprender cada vez mais. Obrigado pelos conselhos. Espero que nossa amizade perdure.

Ao Prof. Dr. Sérgio de Toledo, convivemos pouco, mas o suficiente para admirá-lo. Meu grande abraço.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves. Obrigado pelas suas orientações e parceria neste trabalho. Obrigado pela sua presteza, pelo exemplo de serenidade e competência. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Mauro Antônio de Arruda Nóbilo, por ter aceito, prontamente, o convite para ser banca da minha defesa de tese. Fico muito agradecido pela amizade e atenção.

Ao Prof. Dr. Giorgio De Micheli, por ter se colocado a disposição para somar conhecimentos ao nosso trabalho durante a minha defesa de tese. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Saulo Duarte Passos, por deixar seus compromissos, como professor e médico, para contribuir com o nosso trabalho. Minha imensa satisfação em tê-lo na minha defesa de tese.

Aos amigos Dr. Eduardo Lúcio Nicolela Junior e Dr. Humberto Magno Passos, por terem aberto as portas do centro de hemodinâmica de Piracicaba para a realização deste trabalho. Obrigado por compartilharem suas experiências clínicas e por me acolherem de forma tão especial. Minha admiração e eterna amizade.

A minha namorada Marcela. Obrigado pelo seu carinho, paciência, compreensão, respeito e amor. Seu sorriso me enche de alegria. Nunca esquecerei seu apoio. Eu te amo muito. Quero agradecer também, a D. Inês (mãe da Marcela), ao Marcos e Gustavo (irmãos da Marcela), à Regina e toda a família Pinto, por me acolherem tão carinhosamente. Serei eternamente grato a vocês.

Á minha querida amiga Ângela Guimarães Martins (Angelina), Deus colocou você no meu caminho. Agradecerei sempre o que você fez por mim e por termos vivido grandes momentos juntos. Com toda certeza você é uma das grandes partícipes desta conquista. Sou muito feliz por sermos amigos e por você ter acreditado em mim. Você é uma pessoa maravilhosa. Deus te ilumine, minha amiga!

Á minha amiga Liana, por estar sempre ao meu lado. Obrigado pelo seu carinho. Um grande beijo.

Á querida Eliete, secretária da Periodontia, muito obrigado pela sua paciência e pela sua amizade. Simpatia em pessoa. Mulher de muita competência. Obrigado por tudo.

Ao amigo Sérgio Cruz, da microbiologia, sem você este trabalho seria impossível de ser realizado. Obrigado pelos seus ensinamentos e grande paciência. Serei eternamente grato.

Aos meus amigos do doutorado, Mauro, Liana, Fabrícia, Beatriz, Fernanda, Renato, Daniela, Thaísangela e Ezimar. Obrigado, também, a amiga Karina, do pós-doutorado, pelo carinho e respeito. Vocês foram importantes para que os dias fossem menos cansativos. Torço por todos vocês.

As amigas do mestrado Ana Paula, Tati, Fernanda, Mônica e Mirela. Obrigado pela convivência. Sucesso no doutorado de vocês.

Aos amigos ingressantes no mestrado Hugo, Lucas e Maria Fernanda. Foi muito bom conhecer vocês. Sucesso e muita paz.

Aos amigos, Ângela, Bruno Gurgel, Patrícia, João, Poliana, Robert, Renato, Daiane, Saulo, Marcelo, Bruno, Sandro, Érica, Cléverson. Aprendi muito com vocês. Foi muito bom conhecê-los.

Aos colegas de outras áreas: cirurgia, prótese, dentística, ortodontia, radiologia e endodontia. Obrigado pela amizade.

Á Mariana, técnica do laboratório de Periodontia, sempre simpática e atenciosa. Muito obrigado por tudo.

À Regina, nova secretária da periodontia, que desde cedo conquistou nossa simpatia. Obrigado pela sua presteza. Bons trabalhos.

Ás funcionárias da Clínica de Especialização, Rosângela, Joana, Luíz Cláudio (técnico). Vocês são muito importantes para o funcionamento da nossa clínica. Obrigado por sempre ajudar.

Ás enfermeiras e auxiliares de enfermagem do centro de hemodinâmica de Piracicaba do Emcor (Priscila, Toninha, Márcia, Roseli, Juliana, Cris, Marly, Renata, Marta e Dalva). Aos técnicos de radiologia Gustavo e Roberto. Ás secretárias Fabiana, Sara e Luciana. Obrigado por todo o apoio e carinho. Vocês foram extremamente importante para a realização deste trabalho.

Aos colegas, amigos e professores do curso de Odontologia da UNIFOR, Fortaleza – Ceará, em especial aos amigos Guilherme Luna, José Edson (Bubuka), João Paulo, Carlinho, Rodrigo Luna e Igor Demes. Agradeço pelos amigos que encontrei e pelo apoio que recebi.

Aos colegas, amigos e professores do curso de Odontologia da UFPI, Teresina – Piauí, em especial ao amigo Nélio. Você é um grande companheiro. Que nossa amizade seja eterna. Torço por você!

Aos meus pacientes, pois sem a confiança deles nada seria possível.

Á CAPES, pelo auxílio financeiro indispensável ao desenvolvimento de todas as atividades durante meu curso de mestrado.

Á todos que indiretamente tiveram grande importância para a realização de mais essa etapa da minha formação.

VIVER

Difícil mesmo é viver...

É se acostumar com novas culturas e mentalidades,

É desfrutar de novos prazeres,

É romper barreiras antes intransponíveis, consolidadas em nós desde o nascimento.

É entender que o mundo é muito mais do que imaginávamos que fosse e

Cada vez mais parece ser maior ainda.

É lutar contra nós mesmos, contra a nossa essência; que em alguns momentos é forte demais e em outros é fraca o bastante para duvidarmos de nós mesmos.

É como um animal fora de seu habitat, que demora um tempo para crescer e se adaptar a um novo mundo a sua volta.

Seria essa, a tal maturidade? Ou apenas as regras do viver?

Como saber se estamos prontos para enfrentar novas mudanças?

O difícil é que sempre estaremos enfrentando mudanças e a maioria das vezes não sabemos quando as novas irão chegar.

Seria difícil enfrenta a mudança seguinte sem ter enfrentado a anterior?

Talvez o dom da reflexão seja o ponto máximo da sabedoria do viver.

Maduros ou não, estamos vivendo mudanças a cada instante e, a cada nova mudança, somos capazes de viver melhor.

Difícil mesmo é encontrar a chave da relação entre o viver e o amadurecer...

Difícil mesmo é viver....

Wagner Leal Serra e Silva Filho

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a interrelação entre a Doença Periodontal e a Doença Aterosclerótica Coronariana Obstrutiva (DACO), em pacientes com indicação de Angioplastia Transluminal Coronária Percutânea (ATCP). Para esse fim, foram selecionados 18 pacientes com DACO e diagnóstico de doença periodontal crônica. Após exame periodontal, foram coletadas amostras de biofilme subgengival nos sítios periodontalmente comprometidos, bem como nos balões utilizados durante o procedimento de Angioplastia para esmagamento da placa aterosclerótica. Em seguida, as amostras foram utilizadas para verificação dos microorganismos presentes, por meio da técnica de amplificação do DNA pela reação em cadeia de polimerase (PCR). As amostras de biofilme subgengival e dos balões foram comparadas entre si e com DNA puro dos patógenos periodontais (*Aggregatibacter actinomycetencomitans - Aa, Porphyromonas ginginvalis - Pg, Prevotella intermédia - Pi, Tannerella forsythensis – Tf*). Ao final das análises microbiológicas, os resultados detectaram *Pg* em 11,1% e *Tf* em 38,9% dos balões de angioplastia. Nenhuma amostra de balão foi positiva para *Prevotella intermédia (Pi) e para Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa).* Após análise estatística pelo teste McNemar, com nível de significância de 5%, e dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que apesar de terem sido encontradas amostras de dois patógenos periodontais (*Porphyromonas gingivalis e Tannerella forsythensis*) nos balões de angioplastia e no biofilme subgengival, esta correlação não foi estatisticamente significante; não permitindo a afirmação de que exista associação causal entre a doença periodontal e a doença aterosclerótica coronariana obstrutiva.

Palavras-chaves: Doenças Periodontais, doenças cardiovasculares, aterosclerose

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the relationship between periodontal disease and obstructive atherosclerotic coronary disease (OACD) in patients with indication for percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). Eighteen patients with diagnose of periodontal disease and OACD were selected for this study. After thorough periodontal examination subgengival biofilm samples were collected in periodontal pockets with probing depth ≥ 5mm. The balloons used to crush the atherosclerotic plaques during the angioplasty procedure were collected. Bacteria found in biofilm and balloons were identified using polymerase chain reaction (PCR) assays. Bacteria from periodontal pockets were compared with the microorganisms detected in the atherosclerotic plaques obtained from the same patient and with the pure DNA of periodontal pathogens *(Aggregatibacter actinomycetencomitans - Aa, Porphyromonas ginginvalis - Pg, Prevotella intermédia - Pi, Tannerella forsythensis – Tf)*. After the microbiological analysis it was observed the presence of *Pg* in 11.1% of the samples, *Tf* in 38.9% of the balloons. None of the balloons were positive for the presence of *Pi* and *Aa*. After statistic analysis for McNemar test, with significance level of 5%, and within the limits of this study, it can be concluded that even though two periodontal pathogens (*Porphyromonas gingivalis e Tannerella forsythensis)* were found both in the balloons and subgingival biofilms, the correlation between the samples was not significant, thus not allowing the assertive that there is a causal relationship between periodontal disease and obstructive atherosclerotic coronary disease.

Key-words: Periodontal diseases, cardiovascular diseases, atherosclerosis

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 01

2. REVISÃO DA LITERATURA 05

2.1 ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES - ATEROSCLEROSE

2.2 TRATAMENTO DAS LESÕES ATEROSCLERÓTICAS CORONARIANAS – ANGIOPLASTIA TRANSLUMINAL CORONÁRIA PERCUTÂNEA (ATCP)

2.3 MECANISMOS DE CORRELAÇÃO ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL E AS LESÕES ATEROSCLERÓTICAS

2.3.1 Bacteremia

2.3.2 Alteração nos marcadores sistêmicos da Inflamação

2.3.3 Fatores de risco

2.4 BACTÉRIAS ORAIS E A DOENÇA CARDIOVASCULAR

3. PROPOSIÇÃO 32

4. MATERIAL E MÉTODOS 33

4.1 Seleção da amostra

4.2 Coleta das amostras do biofilme subgengival

4.3 Procedimento cirúrgico de Angioplastia Transluminal Coronária Percutânea (ATCP) e a coleta dos balões

4.4 Técnica de amplificação do DNA pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

4.5 Análise estatística

5. RESULTADOS 43

6. DISCUSSÃO 46

7. CONCLUSÃO 51

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 52

9. ANEXOS 70

1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença bastante comum, resultado negativo da interação desequilibrada entre os patógenos que compõem o biofilme dental (placa dental) e os tecidos periodontais. A instalação e a progressão da doença periodontal envolve um conjunto de eventos imunopatológicos e inflamatórios, com a participação dos fatores modificadores locais, sistêmicos, ambientais e genéticos. É caracterizada pelo processo inflamatório destrutivo do aparato de inserção dos dentes envolvidos, podendo levar a perda dental (Sallum *et al*., 2004).

Desde o final da década de 80, estudos têm demonstrado uma forte relação entre a doença periodontal e diversas doenças sistêmicas (Fox, 1992; Haynes & Standford, 2003). Evidências de estudos epidemiológicos recentes sugeriram uma ligação entre as infecções periodontais e um aumento no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, principalmente aterosclerose (Lalla *et al.,* 2003). Essa correlação já havia sido proposta por Mackenzie e Millard, em 1963, quando investigaram a relação entre diabetes e aterosclerose com a presença de cálculos e perda óssea alveolar. Como resultado deste estudo, 62% dos pacientes com aterosclerose apresentaram mais perda óssea do que os pacientes saudáveis.

Dentre as doenças cardiovasculares (DCV), a aterosclerose é uma doença das artérias que possui a maior incidência de morbidade e mortalidade. Inicia-se na pré-adolescência, e mesmo na infância, e caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões gordurosas, denominadas placas ateromatosas ou ateroscleróticas, na parede arterial interna (Guyton, 1992a).

A principal importância da relação entre os patógenos periodontais e as doenças cardiovasculares está na bacteremia que pode surgir em qualquer procedimento que resulte em sangramento gengival, tais como: sondagem periodontal, raspagem e alisamento radicular, profilaxia, escovação dental, uso de fio dental e uso de mecanismos de irrigação com pressão pulsátil (Conner *et al*., 1967).

Herzberg e Meyer (1996) mostraram que, na presença da doença periodontal, os microorganismos do biofilme dental podem disseminar-se através da circulação causando infecção do endotélio vascular, contribuindo para a ocorrência da aterosclerose, o que aumenta o risco de isquemia do miocárdio e infarto. Num modelo de trombose, *in vitro,* bactérias do biofilme dental, como o *Streptococcus sanguis (Ss)* e a *Porphyromonas gingivalis (Pg)*, induziram a agregação plaquetária (Herzberg *et al*., 1992). Os resultados desse estudo indicam que as proteínas associadas à agregação plaquetária do *Ss* e da *Pg* interagem com as plaquetas circulantes, provocando o tromboembolismo e causando anormalidades pulmonares e cardíacas.

Beck *et al*. (1998) observaram semelhantes fatores de risco quando comparados pacientes com doença periodontal e doença cardiovascular, incluindo principalmente: idade, sexo, baixa condição econômica, estresse e fumo.

Em 2000, Hujoel *et al.* avaliaram o risco de doenças ateroscleróticas coronarianas em pessoas com periodontite, com gengivite e sem doença periodontal. Os autores contaram com a participação de 8.032 adultos dentados com idade média de 50 anos, sendo 1.859 indivíduos com doença periodontal, 2.421 com gengivite e 3.752 com saúde periodontal. Durante o período estudado (1982, 1984, 1986, 1987 e 1992) foram medidas as mortes por doença aterosclerótica coronariana, hospitalização por causa idêntica, ou procedimentos de revascularização coronária. Como conclusão, os resultados do estudo não mostraram evidências convincentes de que a periodontite e a gengivite estão associadas à doença cardiovascular.

Com relação aos patógenos periodontais, Haraszthy *et al.* (2000) identificaram, pela primeira vez na literatura, a presença de periodontopatógenos em placas de ateromas. Os patógenos periodontais foram identificados por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR), em 50 ateromas. Os resultados mostraram a presença de *Tannerella forsythensis (Tf*), *Porphyromonas gingivalis (Pg), Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa) e Prevotela intermedia (Pi)*.

Por meio do trabalho de Meurman *et al*. (2004) foi possível observar um aumento de 20% no risco do desenvolvimento de doença cardiovascular e um

risco relativo de 2,85 para acidente vascular cerebral, em pacientes com doença periodontal. Resultado semelhante aos encontrados por Janket *et al.* (2003).

Alguns trabalhos, como os de Cueto *et al.* (2005) e Chun *et al.* (2005) relataram uma significante associação entre os parâmetros periodontais (profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e perda dental) e a extensão e severidade de aterosclerose.

Com o objetivo de identificar patógenos periodontais e isolar essas bactérias orais viáveis nas placas de ateromas, Fiehn *et al.* (2005) confirmaram que o DNA dos patógenos periodontais podem ser detectados nas placas ateroscleróticas, porém não foi possível isolar estas bactérias orais viáveis.

Padilla *et al.* (2006) realizaram um estudo em pacientes com doença periodontal e diagnóstico clínico de obliteração das extremidades inferiores ou estenose na artéria carótida. O objetivo dos autores foi comparar as espécies de periodontopatógenos, encontrados nas bolsas periodontais, com os microorganismos detectados nas placas de ateromas, no mesmo paciente. Por meio dos métodos de cultura bacteriana e PCR, os autores encontraram *Aa* nas placas de ateroma e concluíram que a presença da bactéria tanto nas placas de ateromas como nas bolsas periodontais, nos mesmos indivíduos, pode indicar uma relação do patógeno periodontal no processo da doença aterosclerótica.

Ainda em 2006, Andriankaija *et al.* avaliaram se a associação observada entre doença periodontal e o infarto do miocárdio dependia das mensurações ou dos critérios usados na definição de doença periodontal. Este estudo de caso controle avaliou 537 casos e 800 controles em uma população com idade média de 52 anos, observando os parâmetros clínicos perda de inserção, profundidade de sondagem, altura da crista óssea alveolar e número de dentes perdidos. Com o resultado mostrando um aumento do risco relativo para todos os parâmetros avaliados, os autores concluíram existir uma associação consistente entre a doença periodontal e o infarto do miocárdio.

Segundo Paquette *et al.* (2007), clínicos e pacientes estão cada vez mais cientes de uma possível associação entre a doença periodontal e doenças

cardiovasculares, e do potencial da intervenção periodontal preventiva frente à redução dos riscos para o infarto do miocárdio ou acidentes vasculares cerebrais.

É importante considerar que as doenças cardiovasculares são as causas mais freqüentes de morte no mundo industrializado, respondendo por aproximadamente 50% dos óbitos (Leys, 2001) e que a doença periodontal é a doença crônica inflamatória mais comum, atingindo de 35% a 60% da população mundial (Genco, 1996). Por esse motivo, o intuito deste trabalho é investigar microbiologicamente o real impacto da doença periodontal nas doenças cardiovasculares, aqui representadas pela Doença Aterosclerótica Coronariana Obstrutiva, podendo contribuir como instrumento de prevenção e controle das alterações cardiovasculares para o benefício da população.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES – ATEROSCLEROSE

As alterações cardiovasculares constituem uma das principais causas de morte em todo o mundo, cerca de 29%. Uma projeção feita para o ano de 2020 indica que as doenças cardiovasculares serão responsáveis por cerca de 36% de todas as mortes no mundo (Braunwald, 1997). Dados estatísticos da doença nos Estados Unidos mostraram que as alterações cardiovasculares foram responsáveis por 479.305 mortes no ano de 2003 (AHA, 2003). Segundo os Indicadores de Dados Básicos (IDB – ministério da saúde) no Brasil, em 2005, a porcentagem de óbitos chegou a 46,12%, computando um total de 84.945 óbitos para todas as faixas etárias e sexo. Dentre as alterações cardiovasculares, a Aterosclerose é a responsável pela maioria dos casos de infarto do miocárdio e de infarto cerebral, representando a principal causa de óbito nos EUA e Europa Ocidental.

O termo Aterosclerose (Athere = papa; sclerose = endurecimento) foi criado por Marchand em 1904, para diferenciar um tipo especial de **Arteriosclerose**, nome genérico que engloba um grupo de afecções cujo denominador comum é a presença de alterações da parede vascular que culminam, na fase final, com o endurecimento dos vasos. Aliás, a Aterosclerose é o principal tipo de Arteriosclerose, em função das complicações isquêmicas que podem ocorrer no coração, cérebro, rins, intestino e nas extremidades inferiores (Ross & Glomset, 1976). A Aterosclerose humana é um processo crônico, progressivo e sistêmico, caracterizado por respostas inflamatórias e fibroproliferativa da parede arterial, causada por agressões na camada íntima das artérias. Como processo sistêmico, freqüentemente, acomete todos os leitos arteriais incluindo a aorta e seus ramos principais: carótidas, renais, ilíacas e femorais. A hipercolesterolemia, a hipertensão arterial (HA), o diabetes, o tabagismo, as reações imunológicas e inflamatórias, e a suscetibilidade genética individual, figuram entre os fatores de

risco para o aparecimento das lesões arteriais (Ross, 1986, Valle & Baptista, 1996).

As alterações vasculares presentes na aterosclerose derivam de três componentes fundamentais: disfunção endotelial, que se instala precocemente, com alteração da reatividade do vaso, causando vasoconstricção paradoxal; também induz à perda das propriedades antitrombóticas naturais e da permeabilidade seletiva do endotélio; obstrução da luz do vaso pela placa aterosclerótica, levando a complicação trombótica no local da lesão. Os três componentes são capazes de causar insuficiência cardíaca, mas frequentemente ocorrem ao mesmo tempo (Favarato & Da Luz, 1998).

As células endoteliais desempenham diversas funções fisiológicas na manutenção da integridade da parede arterial e constituem barreira permeável, através da qual ocorrem difusão e trocas ou transporte ativo de diversas substâncias. Elas proporcionam uma superfície endotelial não trombogênica e não aderente, para plaquetas e leucócitos; atuam na manutenção do tônus vascular através da liberação de óxido nítrico (NO), prostaciclinas (PGI_2) e endotelinas; produzem e secretam fatores de crescimento e citocinas; mantêm a integridade da membrana basal rica em colágeno e proteoglicanos na qual estão apoiadas (Moncada & Higgs, 1993). As alterações, em uma ou mais destas funções, representam manifestações iniciais de disfunção endotelial e poderão desencadear interações celulares com monócitos, plaquetas, células musculares lisas e linfócitos, dando início à formação da placa aterosclerótica (Roos, 1993; Berliner *et al.* 1995).

Avaliando a progressão da doença aterosclerótica coronariana, Souza *et al.* (2001) caracterizaram a doença como crônica, possuindo períodos de quiescência, alternados com fenômenos agudos, que incluem o infarto do miocárdio, angina (desconforto toráxico tipicamente provocado por esforço ou ansiedade, aliviado pelo repouso e não resultando em necrose do miocárdio), insuficiência cardíaca e a morte.

Segundo Little & Falace (2000), a aterosclerose coronariana pode ser assintomática e sintomática. Quando é sintomática, é referida como doença

isquêmica do coração. Os sintomas resultam da diminuição do oxigênio no miocárdio, devido à redução da luz dos vasos, por deposição das placas ateroscleróticas, levando a um déficit no fluxo sanguíneo.

As placas ateroscleróticas também começam a surgir devido à deposição de cristais diminutos de colesterol na íntima da artéria e no músculo liso. Com o decorrer do tempo, os cristais crescem e coalescem para formar cristais muito grandes. Além disso, o tecido fibroso circundante e o músculo liso proliferam e formam camadas adicionais para o crescimento de placas cada vez maiores. A placa, juntamente com a proliferação celular, pode tornar-se tão grande a ponto de a superfície interior do vaso projetar-se profundamente no lúmen, reduzindo de modo acentuado o fluxo sanguíneo, podendo causar a oclusão vascular completa. Em seguida, é freqüente ocorrer precipitação de sais de cálcio com colesterol e outros lipídeos da placa, resultando em calcificação da parede arterial, transformando as artérias em tubos totalmente rígidos (Guyton, 1992 a).

A placa aterosclerótica madura apresenta, além de células, dois componentes estruturais distintos: um núcleo lipídico, pouco denso, e a capa fibrosa, que é o seu componente fibrótico. Este componente representa cerca de 70% do tamanho total da placa e, quanto maior, menos propensa ao rompimento é a placa. A capa fibrosa é formada basicamente por células musculares lisas, matriz extracelular e células inflamatórias. A matriz consiste de colágeno, elastina, proteoglicanos e microfibrilas protéicas. O núcleo lipídico é hipocelular e rico em lípides extracelulares, principalmente cristais e ésteres de colesterol (Schwartz *et al.* 1991; Kragel *et al.* 1989 e 1990; Rosenschein *et al.* 1992).

Sua patogênese é controversa, pois pode derivar tanto dos lípides aprisionados no espaço extracelular, como da necrose ou apoptose das células espumosas (macrófagos que incorporam grande partículas de LDLox, lipoproteína de baixa densidade oxidada, e tornam-se ricos em conteúdos lipídicos) (Rosenschein *et al.* 1992). O conteúdo deste núcleo lipídico é altamente trombogênico, quando em contato com a corrente sanguínea, por ruptura da capa fibrosa ou erosão endotelial, ocorrem fenômenos de adesão e agregação plaquetária, e a formação de trombina e fibrina, dando origem a um trombo

sobrejacente, que representa o ponto inicial comum das síndromes coronárias agudas (Stary *et al.* 1995).

Também denominadas Ateromas, as placas ateroscleróticas são consideradas estáveis quando a espessura da capa fibrosa é espessa com um núcleo lipídico pequeno. Esta placa provavelmente não se romperá facilmente. Já as placas instáveis apresentam um núcleo lipídico grande e uma capa fibrosa fina, sendo as mais propensas a se romperem e, dessa forma, causarem os acidentes tromboembólicos. A ruptura da capa fibrosa, das placas ateromatosas, é provavelmente provocada por metaloproteinases liberadas por macrófagos ativados por linfócitos T (Kai *et al.* 1998). Neutrófilos e mastócitos (ativados em pacientes com angina instável) também podem ser importantes para desestabilizar as placas ateromatosas, por meio da liberação de elastases e radicais livres de oxigênio (Biasucci *et al.* 1996; De Servi *et al.* 1991). A liberação de elastase e radicais livres, com a hiperativação dos neutrófilos, já foi demonstrado, também, em pacientes com periodontite crônica (Gustafsson & Asman, 1996; Figueredo *et al.* 1999).

2.2 TRATAMENTO DAS LESÕES ATEROSCLERÓTICAS CORONARIANAS – ANGIOPLASTIA TRANSLUMINAL CORONÁRIA PERCUTÂNEA (ATCP)

Nas últimas décadas a medicina sofreu um grande avanço científico e tecnológico, implementando novos conceitos e novas técnicas que trazem à população uma melhor qualidade de vida. Dentro desse contexto, a cardiologia é destaque, enriquecendo-se com numerosas e fundamentais contribuições que a transformaram na especialidade de maior expressão dentro da medicina. Em relação ao tratamento das doenças ateroscleróticas coronarianas obstrutivas (DACO), por meio da revascularização miocárdica, a angioplastia transluminal coronariana percutânea (ATCP) vem sendo utilizada, com êxito crescente, como método alternativo. Passou a ser aplicada a partir do final de 1977, quando foi realizada pela primeira vez por Andreas Gruentzig e introduzida em nosso país em fins de 1979 (Sousa *et al.* 1980). Esta técnica não-cirúrgica sofreu um crescimento

vertiginoso com ampliação de suas indicações e obtenção de resultados cada vez mais expressivos, fato este que a colocou em posição de destaque dentro da subespecialidade chamada cardiologia intervencionista.

Em diversos estudos randomizados, a ATCP demonstrou eficiência semelhante à cirurgia cardíaca e ao tratamento clínico, quanto à incidência de infarto e/ou morte. Em comparação à cirurgia, associa-se a maior necessidade de novos procedimentos, especialmente no primeiro ano após intervenção. Porém, passada a fase inicial, a evolução é muito boa. Um avanço mais recente da técnica foi o uso de próteses expansíveis, os stents.

A técnica de angioplastia transluminal percutânea utiliza um cateter-balão para o esmagamento da placa ateromatosa, aliviando a estenose do vaso e restaurando a normalidade do fluxo sanguíneo. O objetivo primário da dilatação com balão, nas lesões arteriais oclusivas, é obviamente o aumento do lúmen arterial o suficiente para restabelecer a adequada perfusão tecidual (Pereira & Grudtner, 2005). Além das condições anatômicas desfavoráveis, onde a probabilidade de sucesso das angioplastias se torna limitada, existem poucas situações onde a angioplastia com balão não pode ou não deve ser indicada. De forma lógica, se a lesão é inacessível, pelas técnicas presentes, ela não poderá ser dilatada. As complicações relacionadas à técnica compreendem aquelas relacionadas a utilização de agentes de contraste (alergia ao iodo), e aquelas inerentes à técnica do procedimento como o acesso ao sistema vascular, a ultrapassagem da lesão pelo guia, a dificuldade de manipulação dos catéteres e a própria dilatação com balão (Pereira & Grudtner, 2005).

Restrita inicialmente a lesões simples e proximais, a realização das angioplastias evoluiu para casos de maior complexidade, incluindo lesões múltiplas em um ou mais vasos e em subgrupos clínicos variados (idosos, síndromes agudas, e pós-cirúrgica de revascularização miocárdica) (Souza *et al.* 1988; Bourassa *et al.* 1988; Ryan *et al.* 1988). Seguindo as diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia, a técnica é indicada para os casos de doença uniarterial onde existe lesão de pelo menos 70% da luz do vaso, em artérias que irrigam grande ou moderada área miocárdica, com alta probabilidade de sucesso e

baixo risco de complicações, em indivíduos sintomáticos e assintomáticos com isquemia evidenciada por provas diagnósticas; em lesões entre 50 e 70%, com as demais características acima, a angioplastia poderá ser realizada quando não houver controle clínico da sintomatologia; em lesões >70%, em artérias que irrigam pequenas áreas do miocárdio, com alta probabilidade de sucesso e baixos índices de complicações em indivíduos sintomáticos e assintomáticos com isquemia evidenciada por provas diagnósticas; em lesões complexas >70% com menor probabilidade de sucesso e maior índice de complicações em artérias que irrigam grande e moderada área do miocárdio, em indivíduos sintomáticos e assintomáticos com isquemia evidenciada por provas diagnósticas. A técnica também pode ser indicada em casos de doença multiarterial e apresenta como contra-indicação, absoluta, a dilatação de lesões com grau de obstrução <50%; dilatação de lesão do tronco da artéria coronária esquerda, sem proteção em relação à pelo menos um de seus ramos principais; lesão em vaso derradeiro, isto é, único vaso responsável por toda a irrigação coronária (Sousa *et al.* 1980).

2.3 MECANISMOS DE CORRELAÇÃO ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL E AS LESÕES ATEROSCLERÓTICAS

2.3.1 Bacteremia

A influência negativa das infecções bucais na saúde sistêmica tem sua origem na disseminação dos microorganismos, ou de seus produtos, na corrente sanguínea, o que é chamado de bacteremia. Este fenômeno pode ocorrer após procedimento simples de higiene bucal, procedimentos profissionais de tratamento, que induzem sangramento, ou até mesmo durante a mastigação. Estes freqüentes surtos de bacteremia transitória podem representar riscos no estabelecimento de doenças cardiovasculares em determinados pacientes (Toledo & Rossa JR, 1999; Genco *et al.* 2000). Historicamente, uma das associações mais cogitadas diz respeito à endocardite infecciosa, uma doença caracterizada pela contaminação da superfície do endotélio, principalmente nas válvulas cardíacas. Apesar do significativo comprometimento na qualidade de vida de seus

portadores, trata-se de uma ocorrência de baixa prevalência, sendo que de 4 a 20% são de origem bucal (Mansur *et al.* 1990; Knox & Hunter, 1991). Segundo Pallasch & Slots (1996), a morbidade desta patologia tem uma relação importante com as infecções bucais, pois patógenos encontrados na boca são responsáveis por significativas ocorrências das doenças valvulares.

Muitos autores concordam com o fato de que a maioria dos casos de endocardite bacteriana desencadeados por patógenos bucais não tem início nos procedimentos odontológicos, mas nas bacteremias transitórias espontâneas, como as decorrentes da higiene bucal e da mastigação (Bayless *et al*. 1984; Carmona *et al.* 2002). Em 1984, Gunthreoth avaliou a exposição acumulativa, em minutos, de bacteremia mensal, decorrente de hábitos rotineiros como a mastigação, escovação e bochechos. O resultado do estudo mostrou um valor médio de 5.376 minutos contra 6 minutos quando decorrente de um procedimento de exodontia. Estes valores mostraram que a freqüência das bacteremias transitórias tem maior impacto sobre a saúde sistêmica quando comparado a procedimentos odontológicos mais invasivos de acontecimento esporádicos.

A doença periodontal apresenta-se como uma das mais destacadas formas de reservatório bacteriano e de disseminação das bacteremias. Um estudo clínico realizado por Overholser *et al.* (1987) utilizou dois grupos de ratos, um com doença periodontal e outro com saúde, para avaliar a incidência de bacteremia pós-exodontia dental. Nos dois grupos foram realizadas coletas de sangue 10 minutos após os procedimentos. Ao final do estudo foi possível observar maior incidência de “surtos de bacteremias” no grupo com doença periodonal (95%) contra 75% do grupo com saúde. No ano seguinte, o mesmo grupo de autores realizou um estudo, com metodologia bem semelhante, para avaliar a incidência de endocardite bacteriana, após extração dental, em ratos que sofreram indução de doença periodontal (Overholser *et al.* 1998). Durante o período de colocação das ligaduras, foi introduzido um catéter transaórtico (para coleta de sangue após as extrações dentais). Setenta e duas horas após as extrações, os ratos foram sacrificados para análise dos catéteres. Os resultados mostraram que as extrações induziram endocardite bacteriana em 24% dos ratos que permaneceram

com ligadura durante 10 semanas e em 50% dos ratos que permaneceram com ligadura durante 14 semanas. A análise estatística deste trabalho mostrou um aumento da incidência de endocardite bacteriana com o aumento da severidade da doença periodontal. Em contra partida, o trabalho realizado por Dias, em 2003, mostrou que os microorganismos associados com a doença periodontal parecem não corresponder aos principais responsáveis pela interação de risco entre a doença periodontal e os "surtos de bacteremia". A autora sugere que os sítios com doença periodontal podem servir como "alojamento" para cepas bacterianas relacionadas à endocardite infecciosa, mas que não necessariamente estejam vinculadas, diretamente, ao dano periodontal.

Nord & Heimdahl (1990) sugeriram que a bacteremia pode ser observada quando uma mucosa saudável colonizada é traumatizada, como ocorre nas extrações dentais e em outros procedimentos invasivos. O grau de bacteremia é proporcional ao trauma induzido pelo procedimento cirúrgico e ao número de microorganismos que habitam essa superfície. Na grande maioria dos casos as bacteremias transitórias são de pequeno grau e a circulação sangüínea torna-se estéril, passados 20 minutos. Em 1991, Lofthus *et al.* investigaram a incidência de bacteremia após irrigação subgengival com gluconato de clorexidina a 0,12% e subseqüente terapia periodontal (raspagem e alisamento radicular). Neste trabalho 30 pacientes com média de idade de 57 anos, com pelo menos 1 sítio com profundidade de sondagem igual ou maior que 4mm e sangramento à sondagem, foram divididos em três grupos: pacientes que receberam irrigação subgengival com clorexidina, pacientes que receberam irrigação com água estéril e um grupo controle com os pacientes que não receberam irrigação subgengival. Após 2 minutos da instrumentação periodontal foram coletadas amostras de sangue nos três grupos. Ao final do estudo os autores observaram que não havia diferença estatisticamente significante quando comparados os grupos, e que a associação da irrigação com gluconato de clorexidina não reduz a incidência de bacteremia após instrumentação periodontal subgengival.

Daly *et al.* (1997) avaliaram a ocorrência de bacteremia durante o exame periodontal (sondagem) em uma amostra de 30 pacientes com média de idade de

42,7 anos, sendo 50% do sexo feminino e 50% do sexo masculino. Todos os pacientes apresentaram boa saúde geral e não haviam usado antibiótico no mês anterior ao exame. Antes e imediatamente após a sondagem era retirado 20ml de sangue venoso e o material era inoculado em cultura aeróbica e anaeróbica. Os resultados mostraram bacteremia com espécies de origem bucal, após a sondagem, em 13 paciente (43%), sendo o *Streptococcus viridans spp* a espécie mais comum. Não houve correlação significativa entre a presença de bacteremia e a severidade da doença periodontal. Os autores concluíram que a sondagem periodontal pode causar bacteremia em pacientes com doença periodontal crônica. Resultados semelhantes foram observados, pelos mesmos autores, em um estudo realizado no ano de 2001 (Daly *et al.* 2001).

Em 2006, Forner *et al.* publicaram um estudo que avaliou a incidência de bacteremia após a mastigação, a escovação dental e a raspagem, em pacientes que apresentavam inflamação periodontal. Neste estudo, as principais descobertas foram que a incidência e a magnitude de bacteremia, após o procedimento de raspagem, são maiores em pacientes com periodontite que em pacientes com gengivite e com saúde periodontal. Os autores concluíram que a prevenção e o tratamento das doenças periodontais parece ser crucial para a prevenção de bacteremias associadas a procedimentos de origem bucal.

Um estudo mais recente realizado por Lafaurie *et al.* (2007), avaliou a freqüência de bactérias periodontopatogênicas e outras subgengivais, anaeróbias facultativas ou não, presentes no fluxo sanguíneo de pacientes submetidos a raspagem e alisamento radicular. Foram incluídos neste estudo 42 pacientes com periodontite crônica severa generalizada e com periodontite agressiva generalizada. Quatro amostras de sangue periférico foram coletadas de cada paciente em diferentes tempos: imediatamente antes do tratamento, imediatamente após o tratamento, após 15 minutos e 30 minutos. Para a identificação dos microorganismos presentes no sangue foram realizadas culturas em condição de anaerobiose. 80,9% dos pacientes avaliados apresentaram cultura positiva após a terapia periodontal, ocorrendo com maior freqüência na avaliação imediatamente após a raspagem. Entretanto, 19% dos pacientes ainda

apresentaram microorganismos no fluxo sanguíneo após 30 minutos do procedimento. Os autores concluíram que a terapia periodontal por meio da raspagem e alisamento radicular induz bacteremia associada a bactérias anaeróbias, principalmente em pacientes com doença periodontal.

2.3.2 Alteração nos marcadores sistêmicos da inflamação

A presença de foco inflamatório na cavidade bucal pode aumentar potencialmente o processo que envolve a doença aterosclerótica, por meio da estimulação da resposta humoral e de células que mediam o processo inflamatório. O grau de inflamação periodontal é suficiente para desencadear uma resposta inflamatória sistêmica que é evidente com o aumento dos níveis dos marcadores inflamatórios, principalmente a Proteína C-reativa (PCR) (Rahmati *et al.* 2002; Pupim *et al.* 2004; Chen *et al.* 2006).

Ebersole & Cappelli, (2000) mostraram que o aumento da produção de proteínas de fase aguda, incluindo a proteína C-reativa, fibrinogênio e haptoglobulina, pode ser outro mecanismo de conexão entre a doença periodontal e cardiovascular. A reação de fase aguda representa uma reação complexa do hospedeiro para uma série de injúrias, tais como infecções bacterianas, virais, trauma térmico ou mecânico, necrose isquêmica e câncer.

A proteína C-reativa é considerada importante marcador da inflamação sistêmica, e níveis elevados têm sido associados com risco futuro de infarto do miocárdio, em homens aparentemente saudáveis (Ridker *et al.* 1997, 1998). Os trabalhos de Ebersole *et al.* (1997), Loos *et al.* (2000) e Wu *et al.* (2000) demonstraram que a doença periodontal pode aumentar os níveis sistêmicos da PCR, existindo provavelmente um limite mínimo pelo qual a periodontite possa influenciar a liberação desta proteína de fase aguda. Slade *et al.* (2000) demonstraram que pacientes com pelo menos 10% de bolsas periodontais maiores que 4mm, de profundidade de sondagem, apresentavam níveis séricos elevados da PCR. Uma média de 4,5mg/L comparado com uma média de 3,3mg/L em pacientes não apresentando bolsas periodontais. Evidências epidemiológicas sugerem que o fibrinogênio é um importante fator de risco cardiovascular, tendo

papel de destaque na trombose, por influenciar a adesão e agregação plaquetária (Ernst, 1993; Wu *et al*. 2000).

Outro marcador inflamatório importante é a Interleucina-6 (IL-6). A elevação do nível sistêmico deste marcador está associada a episódios de angina instável e com quadro clínico de doença cardiovascular. Por alguns autores, esta interleucina é considerada como fator de risco cardiovascular (Biasucci *et al.* 1996; Mendall *et al.* 1997). Tem sido proposto que elevados níveis de PCR, IL-6 e leucócitos, em pacientes com doença cardiovascular, podem ser resultantes de uma infecção crônica e de processos inflamatórios presentes (Maseri *et al.* 1996; Danesh *et al.* 1997). No ano de 2000, Loos *et al.* realizaram um estudo com o objetivo de mensurar os níveis sistêmicos dos principais marcadores inflamatórios para as doenças cardiovasculares (PCR, IL-6 e contagem de leucócitos), em pacientes com e sem doença periodontal crônica. O estudo contou com 150 pacientes, destes 54 tinham periodontite generalizada (número de dentes ≥ 8mm com perda óssea) e 53 periodontite localizada, e um grupo controle com 43 pacientes com saúde bucal. A condição periodontal foi determinada por meio de radiografias periapicais, sendo avaliado o grau de perda óssea nas faces proximais dos dentes presentes. Foram excluídos do estudo os pacientes que possuíam alguma alteração sistêmica, grávidas e que tivesse sido submetido a extrações dentárias recentemente. Os resultados mostraram uma diferença estatisticamente significante dos níveis de PCR, IL-6 e leucócitos para os pacientes com doença periodontal, quando comparados ao controle. Os autores concluíram que essa elevação dos níveis dos marcadores inflamatórios pode aumentar a atividade inflamatória nas lesões ateroscleróticas, com aumento do risco de eventos cardíacos e cerebrovasculares.

Outro estudo realizado por Noack *et al.* (2001), também com intuito de avaliar os níveis da proteína C-reativa em pacientes com periodontite moderada e avançada, selecionaram 174 pacientes, 59 com perda óssea moderada, 50 com perda óssea avançada e 65 sem alterações periodontais. No final do estudo foi possível observar que quanto maior a severidade da doença maior foram os níveis sistêmicos da PCR. Desta forma, mais uma vez esta correlação positiva permite

afirmar que o grau de destruição periodontal pode influenciar o aumento do risco de doença cardiovascular nestes pacientes.

Estudos prospectivos têm estabelecido que os elevados níveis dos marcadores inflamatórios (PCR, fibrinogênio, IL-1β, IL-6 e o fator de necrose tumoral-α), medidos no sangue periférico, estão associados diretamente ao risco de doença cardiovascular e à severidade da doença aterosclerótica (Berk *et al.* 1990; Liuzzo *et al.* 1994; Ridker *et al.* 1998; Danesh *et al.* 1998).

Kornman *et al.* (1999) realizaram um estudo sobre as citocinas e a associação entre a doença periodontal e a doença cardiovascular. Os autores mostraram que, na doença periodontal, a interação entre lipopolissacarídeos bacterianos e os monócitos (células que levam à liberação de várias citocinas) é fundamental para o início e a progressão da destruição periodontal. Uma interação similar pode, também, ser relacionada à trombogênese, formação de ateroma e à doença aterosclerótica coronariana. Segundo os autores, o que se observa é que os lipopolissacarídeos bacterianos podem ter um efeito vascular significativo e desencadear a liberação da Interleucina-1β, fator de necrose tumoral-α (TNF- α) e Tromboxano A_2. Essas citocinas podem iniciar o processo de agregação e adesão plaquetária e promover a formação de células espumosas lipídicas com o depósito de colesterol na membrana vascular interna. Além disso, as citocinas liberadas de monócitos, juntamente com o fator de crescimento derivados das plaquetas (PDGF), aumentam a proliferação da musculatura lisa, levando ao espessamento da parede do vaso, predispondo à formação do ateroma.

D'Aiuto *et al.* (2004) realizaram um estudo, caso-controle, com o objetivo de mostrar o efeito sistêmico da terapia periodontal básica (raspagem e alisamento radicular) na redução dos níveis séricos da PCR e da IL-6. Para este trabalho foram selecionados 94 pacientes, com o quadro clínico de doença periodontal severa e generalizada. A sorologia e os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados no baseline, 2 meses e 6 meses após o tratamento. Os resultados obtidos mostraram que a terapia periodontal básica foi suficiente para reduzir de forma significante os níveis sistêmicos da PCR e de IL-6. Baseados nos resultados, os autores concluem que existe uma relação da doença periodontal

com a alteração inflamatória sistêmica e que é importante o papel da doença periodontal na aterogênese.

Uma recente revisão sistemática realizada por Paraskevas *et al.* (2008) explorou os estudos que mostram um nível elevado da proteína C-reativa (PCR) em pacientes com periodontite. Os critérios de eleição das publicações foram: estudos de caso-controle em humanos (avaliação dos níveis de PCR em pacientes com doença periodontal), estudos longitudinais (avaliando nível da PCR após pelo menos 1 mês de tratamento), avaliação de alta sensibilidade para PCR e pacientes com nenhuma desordem sistêmica (incluindo diabetes, doenças cardiovasculares e/ou aterosclerose). Foram identificados inicialmente 448 estudos e, após checagem das referências, resultou em 18 artigos. A maioria dos estudos mostrou níveis mais elevados da PCR em pacientes com periodontite, quando comparados aos controles (sem doença). Os estudos também mostraram níveis de PCR superiores a 2,1mg/L, em pacientes periodontalmente comprometidos. Seis estudos mostraram a redução significativa dos níveis de PCR após terapia periodontal. E como conclusão, os autores reafirmam a interrelação da doença periodontal com os níveis elevados da proteína C-reativa e apresentam modesta evidência do efeito da terapia peridontal na redução dos níveis sistêmicos da proteína.

2.3.3 Fatores de risco

Tradicionalmente os maiores fatores de risco para as doenças cardiovasculares incluem a idade, o sexo, os fatores sócio-econômicos, fumo, fatores metabólicos, hipertensão e o estresse. Quando é avaliado o fator idade, a literatura mostra que pacientes mais velhos sofrem com diversas doenças sistêmicas, principalmente síndromes coronarianas agudas e falhas múltiplas de seus órgãos (Taneva *et al.* 2004). A idade é um fator que também está associado à doença periodontal. Um estudo realizado no México mostrou que existe alta prevalência da doença periodontal em pacientes mais velhos, variando de 27 a 73%, dependendo também das condições socioeconômicas e geográficas (Borges-Yáñez *et al*. 2006).

No ano de 2006, na Suécia, foi avaliada a prevalência da doença periodontal em indivíduos com 80 anos ou mais. Neste estudo foi observada a prevalência de 50% da doença periodontal severa na amostra examinada, aumentando a porcentagem, quanto mais velhos eram os indivíduos (Holm-Pedersen *et al*. 2006). Resultado similar foi observado na Dinamarca, em uma amostra de pacientes também idosos (Krustup & Petersen, 2006). Desta forma, é provável que muitos desses pacientes idosos com doença periodontal tenham, também, doença cardiovascular. Na verdade, existem poucos estudos com idosos que tentam fazer a relação entre incidência da doença periodontal e a doença cardiovascular. No estudo de Persson *et al.* (2002) aproximadamente 50% da população com idade acima de 60 anos apresentava doença periodontal e 55% apresentava diagnóstico de aterosclerose, ou história de isquemia cerebral, pressão sanguínea elevada, ou síndrome coronária aguda. Dentro deste contexto, Lee *et al* (2006) mostraram associação entre idade e condição de saúde bucal com eventos de isquemia cerebral. Mesmo existindo poucos estudos que tratem da relação entre idade, doença periodontal e doença cardiovascular, esta relação parece ser bem estreita.

Em relação ao fator sexo, existem evidências que sugerem a extensão de ateromas, avaliados via ultrason, menos severo e prevalente em mulheres do que em homens, independente de outros fatos de risco cardiovasculares (Nicholls *et al.* 2007). A relação de risco entre o sexo, as doenças cardiovasculares e a doença periodontal ainda é pouco conhecida. Dados de um estudo na população da Pomerânia (norte da Polônia), contando com uma amostra de 1913 indivíduos, revelaram uma associação entre a perda de dente e hipertrofia ventricular esquerda em mulheres, mas não relatada em homens (Völzke *et al.* 2007). Em contra partida, Desvarieux *et al.* (2004) relataram que medidas de avaliação da pobre saúde bucal, incluindo perda dental e periodontite, correlacionando com aterosclerose subclínica, foi observada em homens, mas não em mulheres.

Segundo Buhlin *et al.* (2005), medidas clínicas de periodontite, como o número de bolsas com profundidade ≥ 4mm, têm sido associadas com doença coronária do coração, mas somente em mulheres após o controle dos fatores

idade, fumo, índice de massa corpórea, diabetes, educação e local de nascimento. Outros estudos têm falhado quanto à identificação do sexo como fator de risco na associação entre a doença periodontal e cardiovascular (Andriankaja *et al.* 2007). Entretanto, ainda não é claro o papel do sexo como fator modificador na associação entre a periodontite e o risco de doença cardiovascular.

Principalmente em países em desenvolvimento, o fator socioeconômico contribui para o aumento das doenças crônicas, mais comumente as doenças cardiovasculares. Alterações financeiras, como a perda da produção econômica, podem estar associadas a 80% de mortalidade em países eminentemente capitalistas (Abegunde *et al.* 2007). Em menores proporções, a condição socioeconômica, se persistente, pode influenciar a população desde a infância, podendo refletir em futuros problemas de saúde, como o aumento no risco de desenvolver doenças coronárias do coração (Ramsay *et al.* 2007).

Muitos estudos têm sugerido uma grande associação entre a periodontite severa e fatores socioeconômicos específicos, incluindo baixo grau de educação e condições de moradia desigual (Borrell *et al* 2006 a,b; Peres *et al.* 2007). Sendo que, até o presente momento, não existem estudos que considerem a associação positiva entre a condição socioeconômica, a doença periodontal e o impacto destes fatores na doença coronária do coração, aterosclerose e isquemia cerebral.

Já é bastante conhecido, pela população em geral, o efeito local e sistêmico do mau hábito de fumar. O fumo é uma das mais importantes causas da síndrome coronária aguda, especialmente em homens (Teo *et al.* 2006). Dados sugerem que desde a proibição do hábito de fumar em publico, na cidade de Nova York, o número de admissões, nos hospital, de pacientes com síndrome coronária aguda reduziu em 8% (Juster *et al.* 2007). Da mesma forma, há muitos anos já se conhece o efeito do cigarro sobre a doença periodontal, considerado como fator de risco verdadeiro. Dados derivados de um estudo de caso controle demonstraram que a associação entre a doença periodontal e a doença cardiovascular foi observada, independente da possibilidade do fumo ser um fator de confundimento (Persson *et al.* 2005b, Holmlund *et al.* 2006, Andriankaja *et al.* 2007). Percebe-se que mais estudos são necessários, para melhor entender o

papel do fumo nesta relação entre a doença periodontal e a doença cardiovascular.

Dentre os fatores metabólicos, o índice de massa corpórea tem forte relação com as doenças cardiovasculares, especialmente quando associada à diabetes mellitus (Balkau *et al.* 2007). Uma associação bastante observada em jovens com alto peso corpóreo é o aumento do risco de desenvolver, futuramente, doença no coração (Lawlor & Leon, 2005). Dados revelam que o alto peso influencia no aumento da pressão sanguínea e nos níveis séricos de colesterol no sangue e, este fato, pode levar a um aumento de aproximadamente 45% de risco futuro de doença coronária do coração (Bogers *et al.* 2007).

Desta forma, a diminuição do alto peso corpóreo pode ter maior impacto na tentativa de diminuir os riscos de doença cardiovascular, do que simplesmente parar com o hábito de fumar, ou talvez, tratar uma infecção de origem periodontal. Uma associação entre o índice de massa corpórea e a doença periodontal foi demonstrada por Dalla Vecchia *et al.* (2005), Saito *et al.* (2005), Linden *et al.* (2007). No estudo de Dalla Vecchia, de 706 pacientes avaliados, 377 eram mulheres. Dentre os pacientes do sexo feminino, 65% eram obesas. Neste grupo, a análise estatística revelou existir correlação positiva entre o índice de massa corpórea e a prevalência de doença periodontal, aumentando em 2,1 vezes a ocorrência de doença periodontal, quando comparada a pacientes com peso normal. Outro trabalho mostrou que quando controlado o fator índice de massa corpórea, a condição periodontal tem sido associada à doença coronária do coração em pacientes do sexo feminino (Buhlin *et al.* 2005).

Ainda referindo-se aos fatores metabólicos, os lipídeos de baixa densidade (LDL), presentes na corrente sanguínea, são responsáveis pelo transporte do colesterol por toda a circulação, resultando no desenvolvimento e progressão de aterosclerose, podendo levar a um ataque do coração, isquemia cerebral e doença vascular periférica. Já os lipídeos de alta densidade (HDL) participam do transporte do colesterol para ser excretado ou re-utilizado. Desta forma, a combinação de altos níveis de LDL e baixos de HDL sugere um alto risco de desenvolver doença cardiovascular (Barter *et al.* 2007). Alguns estudos têm

sugerido uma relação entre os níveis elevados de triglicérides e algumas medidas de inflamação sistêmica, incluindo a contagem de células brancas no sangue (Rivera *et al*. 2007). Um dado importante é a relação entre a hipertrigliceridemia e a deficiência da resposta inflamatória, definida pela baixa contagem de células brancas no sangue, que pode ser mediada pela resistência à insulina, fato que também interfere, negativamente, no mecanismo de progressão da doença periodontal (Onat *et al.* 2006, Shimazaki *et al.* 2007).

A relação entre os níveis sorológicos dos marcadores metabólicos incluindo triglicérides, colesterol total, LDL, HDL e níveis de glicose no sangue, tem-se observado em indivíduos com diagnóstico de periodontite severa (Katz *et al.* 2002, Nibali *et al.* 2007). O estudo de Katz *et al.* (2002) avaliou 10.590 militares israelitas, homens e mulheres, quanto a condição periodontal e quanto às alterações metabólicas (níveis de LDL, HDL, triglicérides, glicose). Ao final do estudo foi possível observar uma relação positiva entre a presença de bolsas periodontais e os níveis de LDL, nos militares do sexo masculino.

Quando se trata do fator hipertensão, a literatura ainda é bastante escassa quanto à relação com a doença periodontal. Evidências recentes têm sugerido a hipótese de uma ligação entre a doença periodontal e altas pressões sanguíneas (Inoue *et al.* 2005, Borges-Yáñez *et al.* 2006). O estudo de Völzke *et al.* (2006) mostrou associação entre a hipertensão e algumas medidas de má higiene bucal, como a quantidade de perda dental. Em relação às doenças cardiovasculares, este fator já tem sua atuação comprovada.

O estresse talvez seja um dos fatores de risco mais estudado recentemente. O impacto do estresse no processo inflamatório é observado por meio do aumento dos níveis de alguns marcadores biológicos, como a Interleucina 6 (IL-6) e a Proteína C-reativa (PCR) (Gemes *et al.* 2008). Alguns indivíduos com desordens depressivas apresentam maiores níveis de PCR, igualmente observado em pacientes com doença coronária severa (Andrei *et al.* 2007). Outros estudos sugerem uma relação entre o estresse e elevados níveis de antígeno de plasminogênio ativado, podendo representar um mecanismo plausível que acelera o desenvolvimento protrombótico, aumentando a morbidade e a mortalidade na

doença cardiovascular (Mausbach *et al.* 2007, Shakir *et al.* 2007). Taylor *et al.* (2006) mostraram que o estresse em pacientes mais velhos, com risco elevado de doença cardiovascular, leva ao aparecimento de um hipocortisol que contribui para um processo inflamatório crônico, aumentando os níveis de PCR e o risco de doença cardiovascular.

Na doença periodontal, o estresse também já tem seu papel negativo comprovado. Segundo Genco *et al.* (1999), o estresse contribui para a diminuição da produção de linfócitos e monócitos, retarda e prejudica a quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos (primeira linha de defesa contra agressão bacteriana), reduz a secreção de citocinas inflamatórias e aumenta a produção de enzimas proteolíticas, responsáveis pela destruição tecidual. Alguns trabalhos mostraram que a presença do estresse pode levar ao desenvolvimento de uma doença periodontal mais severa, em indivíduos com uma doença periodontal inicial, e a um resultado pouco satisfatório ao tratamento (Genco *et al.* 1999, Elter *et al.* 2002, Wimmer *et al.* 2002, Ng & Keung Leung, 2006). Independente do maior ou menor efeito do estresse, o fato é que ele tem sido identificado tanto na doença cardiovascular como na doença periodontal. O estresse é considerado um fator de risco para ambas as doenças, podendo ser considerado o "gatilho" que desencadeia uma resposta inflamatória alterada. É sabido que muitos estudos são necessários para comprovar o impacto do estresse na ligação entre a doença cardiovascular e a doença periodontal.

2.4 BACTÉRIAS ORAIS E A DOENÇA CARDIOVASCULAR

Recentemente, um grande número de trabalhos tem reforçado a relação entre indivíduos com doença periodontal e o aumento do risco para desenvolver aterosclerose (Kollveit & Eriksen, 2001; Beck & Offenbacher, 2005). Como já foi mencionado anteriormente, uma das principais hipóteses, que justifica a relação entre as doenças, é a disseminação sistêmica de microorganismos periodontopatogênicos via fluxo sanguíneo (Li *et al.* 2001). Desta forma, têm-se especulado que a exposição freqüente a bactérias de origem bucal, ou a

endotoxinas bacterianas, exerce direta ou indiretamente um efeito nocivo à parede vascular.

Epstein *et al.* (1999), em uma revisão da literatura sobre o papel da infecção bucal na aterosclerose, observaram que os efeitos diretos dos agentes infecciosos sobre os componentes celulares das paredes dos vasos estavam relacionados a: estímulo da proliferação de células musculares lisas; inibição da apoptose nas células endoteliais, levando ao acúmulo excessivo de células musculares lisa e aumentando o volume das lesões; migração aumentada de células musculares lisas da camada média e adventícia, conseqüentemente a diminuição da luz do vaso; acúmulo de lipídios por diminuição da atividade lisossômica e hidrolítica do éster de colesterol citoplasmático, além da atividade aumentada do receptor desoxidante, que pode aumentar o acúmulo de lipídios; disfunção endotelial com efeitos pró-coagulantes, aumentando a síntese de fatores teciduais pelas células endoteliais, aumentando os níveis de trombina na superfície celular e a aderência plaquetária; inibição da função vasodilatadora do endotélio, sendo a perda da função de modular o tônus muscular uma das primeiras manifestações da doença arterial coronariana. Após toda a revisão, os autores concluíram que, embora inexistam provas definitivas do papel de uma infecção bucal durante a aterogênese, as investigações sugerem que os agentes infecciosos se relacionam com o desenrolar desses eventos.

Segundo Slots (1998) a busca de informações microbiológicas para determinar a relação entre as doenças periodontais (DP) e doenças cardiovasculares (DCV), dependeria da capacidade de se evidenciar as mesmas bactérias orais no processo aterosclerótico. Dentre as bactérias orais deveriam ser incluídas no grupo de patógenos periodontais as espécies de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa), Porphyromonas gingivalis (Pg), Prevotella intermédia (Pi), Tannerella forsythensis (Tf) e Treponema denticola (Td).*

Chiu (1999) verificou a presença de periodontopatógenos em carótidas humanas. Neste estudo o autor investigou a presença de múltiplos agentes infecciosos em 33 espécies de carótidas, por meio de imunocorantes com anticorpos específicos. Ao final do estudo foram detectados 63,6% de *Chlamydia*

pneumoniae (C pneumoniae), 42% de *citomegalovírus,* 9% de *vírus do Herpes simples*, 42% de *Porphyromonas gingivalis e* 12% de *Streptococcus sanguis.*

Muitos pesquisadores têm colocado em destaque a ação da *Porphyromonas gingivalis (Pg)* nas alterações cardiovasculares. Estudos em animais mostraram que a *Pg* pode induzir agregação plaquetária, aumentar as lesões ateroscleróticas e acelerar o processo aterosclerótico inicial em ratos, geneticamente modificados (Herzberg & Meyer, 1996; Li *et al.* 2002; Lalla *et al.* 2003). Também foi observado que a *Pg* pode invadir células endoteliais de artérias coronárias e estar envolvida na imunoregulação do processo aterosclerótico, segundo Dorn *et al.* (1999) e Choi *et al.* (2002).

Haraszthy *et al.* (2000) realizaram o primeiro trabalho que identificou a presença de periodontopatógenos em placas de ateromas. Para testar a hipótese de que os periodontopatógenos têm influência no desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica, os autores selecionaram 50 pacientes, com idade média de 69 anos, com estenose na carótida e necessidade de endarterectomia (procedimento de remoção cirúrgica da placa aterosclerótica aderida à parede vascular). As amostras das placas, obtidas cirurgicamente, foram acondicionadas em frascos com 10ml de solução salina, para posterior análise microbiológica. No laboratório foi realizada a técnica de amplificação do DNA bacteriano e a reação em cadeia de polimerase (PCR), para identificação das espécies (*Chlamydia pneumoniae - Cp, Cytomegalovírus humano - Ch, Aggregatibacter actinomycetemcomtans - Aa, Tannerella forsythensis - Tf, Porphyromonas gingivalis - Pg e Prevotella intermédia - Pi*) presentes. O resultado da análise microbiológica mostrou que 80% das placas foram positivas para uma ou mais espécie bacteriana. 38% foram positivas para *Ch* e 18% para *Cp*. 30% foram positivas para *Tf*, 26% para *Pg*, 18% para *Aa* e 14% para *Pi.* Ao final deste estudo, os autores concluíram que a presença de periodontopatógenos, bem como, outros microorganismos infecciosos, nas placas ateroscleróticas, pode ter um papel importante no desenvolvimento e progressão de aterosclerose, levando a uma doença vascular coronariana e outras seqüelas clínicas.

Em um estudo similar, Haraszthy *et al.* (2001) examinaram 93 ateromas obtidos durante endarterectomia de carótida em 18 mulheres e 48 homens da população alemã, com idade variando de 43 a 89 anos. Seguindo a mesma metodologia do estudo anterior, as amostras de carótida foram analisadas pela reação em cadeia de polimerase (PCR) para alguns agentes infecciosos e alguns patógenos periodontais. Como resultado, os autores observaram que 93% dos ateromas foram positivos para um ou mais microorganismos, sendo que 30% foram positivos para *citomegalovírus*, 25% para *vírus Herpes simples* e 23% para *Chlamidia pneumoniae*. Analisando os patógenos periodontais foi possível observar positividade em 39% dos ateromas para pelo menos um patógeno, sendo 26% positivos para *Tannerella forsytuhensis*, 25% para o *Porphyromonas gingivalis*, 13% para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, 16% *para Prevotela intermedia* e 2% para *o Campylobacter rectus*. Os autores concluíram que a infecção periodontal pode ter papel na aterogênese.

Estudando o papel do patógeno periodontal *Porphyromonas gingivalis (Pg)* na doença cardiovascular, Kuramitsu *et al.* (2001) propuseram que a relação poderia ser medida por respostas inflamatórias induzidas pelo patógeno, bem como pela interação direta desses microorganismos nos tecidos cardíacos. Desta forma, os autores investigaram, em macrófagos de ratos, os efeitos da bactéria em alguns eventos celulares que desempenham papel na doença cardiovascular e constataram que a *Pg* foi capaz de induzir a formação de células espumosas, que resultam da conversão da lipoproteína de baixa densidade em lipoproteína de baixa densidade oxidada (uma característica importante na doença aterosclerótica coronária). Outros patógenos periodontais, como o *Tannerella forsythensis* e o *Treponema denticola*, também foram capazes de induzir a formação de células espumosas, porém o *Pg* induziu rupturas de cápsulas fibrosas das placas aterosclerótica, o que é um importante fator na síndrome coronária aguda. Sendo assim, os autores concluíram que o *Pg* exibe várias propriedades que desempenham papel importante na doença cardiovascular: oxidação da lipoproteína de baixa densidade, formação de células espumosas e ruptura de placas aterosclerótica.

Stelzel *et al.* (2002) investigaram biópsias de tecido aórtico quanto à detecção do DNA de periodontopatógenos (*Pg e Aa*) pela técnica da reação em cadeia de polimerase. Neste estudo foram selecionadas 26 amostras de aorta, durante os procedimentos de cirurgias cardíacas. O material coletado foi analisado, por meio de PCR, quanto à presença dos periodontopatógenos. Vinte e três das vinte e seis amostras apresentaram DNA bacteriano, sendo encontrado, neste estudo, somente DNA de *Pg*. Para os autores o resultado indicou uma ligação entre a entrada de patógenos periodontais no sistema vascular e a doença periodontal, apesar de só ter sido encontrado uma das bactérias analisadas.

Dias, em 2003, analisou microbiologicamente (pela técnica da reação em cadeia de polimerase) os balões retirados de pacientes submetidos a angioplastias coronarianas e que apresentavam quadro clínico de doença periodonal crônica. Também foram analisadas amostras do biofilme dos sítios periodontalmente comprometidos. O objetivo foi correlacionar os microorganismos bucais presentes nos balões de angioplastias, à presença destes nas amostras intra-orais dos mesmos pacientes. Foi verificado a presença dos agentes infecciosos *Chlamydia pneumoniae (Cp), vírus Herpes simples (VHS), citomegalovírus (CMV), Helicobacter pylori (Hp)* e dos patógenos periodontais *Pg, Pi, Tf, Aa e Campylobacter rectus (Cr)* nos balões de angioplastia e nas amostras de biofilme subgengival. Os resultados mostraram que, de um total de 61 balões, 48 (78,7%) foram positivos para um ou mais dos microorganismos analisados, sendo identificados *Cp* em 34,4%, *VHS* em 27,9%, *CMV* em 13,1% e *Hp* em 3,3%. Em relação aos patógenos periodontais, 37,7% dos 61 balões foram positivos para pelo menos 1 patógeno periodontal. 28,6% foram positivos para *Pg*, 8,2% foram positivos para *Aa*, 20,4% foram positivos para *Tf*, 22,4% foram positivos para *Pi* e 24,5% foram positivos para *Cr*. Dos 61 pacientes, apenas 20 tiveram amostras intra-orais analisadas quanto à presença dos microorganismos periodontopatogênicos. Após analisar a presença de patógenos periodontais nos balões e associar a sua presença nas amostras de biofilme intra-orais, os autores chegaram aos seguintes resultados: o patógeno *Pg* esteve presente tanto nos balões quanto no biofilme, no mesmo paciente, em 45% (9) dos casos; para o

patógeno *Tf* esta associação esteve presente em 40% (8); os patógenos *Aa e Pi* não tiveram associação estatisticamente significante e para *Cr* a associação esteve presente em 30% (6) dos casos. O estudo conclui que a presença dos patógenos periodontais nas placas ateroscleróticas exerce um papel importante no início e/ou no desenvolvimento das lesões ateroscleróticas e, por conseguinte, na etiologia de algumas doenças cardiovasculares.

Um trabalho realizado por Cairo *et al.* (2004) avaliou a presença de periodontopatógenos em placas ateromatosas e a concomitante presença do DNA das bactérias em bolsas periodontais, nos mesmos pacientes. Foram selecionados um total de 52 pacientes, para a realização de endarterectomia de carótida, sendo divididos em 2 grupos: um grupo teste com 26 pacientes dentados e um grupo controle com 26 pacientes edêntulos. Um completo exame periodontal foi realizado, incluindo exame radiográfico panorâmico, e amostras subgengivais foram coletadas no grupo teste. As amostras subgengivais e as placas ateromatosas, coletadas durante o procedimento cirúrgico, foram analisadas utilizando a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), com primers específicos para cada espécie bacteriana. Os resultados mostraram que nas 52 amostras coletadas durante a endarterectomia, 12 (7 dendados e 5 edêntulos) foram excluídos por apresentar amplificação negativa de DNA. Nas amostras subgengivais de 19 pacientes do grupo teste, *Tannerella forsythensis* foi encontrado em 79%, *Fusobacterium nucleatum* em 63%, *Prevotella intermédia* em 53%, *Porphyromonas gingivalis* em 37% e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em 5% dos casos. Nenhum DNA bacteriano foi encontrado, pela técnica de PCR, nas amostras das placas ateromatosas da carótida, em nenhum grupo de pacientes. Os autores concluíram que a presença de DNA dos periodontopatógenos nas placas ateromatosas não poderam ser confirmadas neste estudo e que nenhuma correlação pôde ser estabelecida entre as espécies bacterianas associadas à doença periodontal e a contribuição destas na formação de placas ateromatosas.

Propondo avaliar a possibilidade de isolar bactérias orais viáveis de lesões ateroscleróticas e de detectar os patógenos peridontais presentes, por meio da

técnica de PCR, Fiehn *et al.* (2005) coletaram 79 amostras de placa ateromatosa, removidas da carótida ou da artéria femoral, durante procedimentos cirúrgicos de reconstrução vascular, em pacientes com idade variando de 51 a 89 anos, de ambos os sexos. O material coletado de 52 placas ateromatosas da bifurcação de carótida e 27 da artéria femoral foi meticulosamente preparado para cultivo de *Pg, Pi, Cr, Aa, Tf, Streptococos orais e Prevotella nigrescens (Pn)*. Apenas 11 amostras de carótida e 13 de artéria femoral foram utilizadas para a extração de DNA e detecção das espécies bacterianas por meio de PCR. Ao final do estudo, nenhuma bactéria investigada cresceu em meio de cultura. Nas 24 amostras submetidas ao PCR foram detectados DNAs bacterianos de *Pi* em 100%, *Pn em 8,3% e Pg em 4,17%*. Com o estudo concluiu-se que não foi possível isolar as bactérias orais viáveis da placa ateromatosa, mas os dados confirmam que o DNA dos patógenos periodontais pôde ser encontrado nas placas ateromatosas.

Ainda com o mesmo objetivo de comparar as bactérias encontradas no biofilme subgengival de bolsas periodontais com as encontradas nas placas aterosclerótica, Padilla *et al.* (2006) selecionaram 12 pacientes com periodontite crônica e diagnóstico clínico de obliteração das extremidades inferiores ou estenose da artéria carótida. Todos os pacientes foram submetidos ao procedimento cirúrgico de endarterectomia, uma semana após o exame periodontal que consistia da verificação da profundidade de sondagem, índice de placa, nível clínico de inserção, sangramento à sondagem e evidência de perda óssea radiográfica. As placas de ateroma foram coletadas e levadas para análise microbiológica, bem como as amostras de biofilme subgengival, das bolsas periodontais, coletadas por meio de cones de papel absorvente estéreis. A análise microbiológica do biofilme subgengival mostrou que em 9 amostras foram observadas associações de duas ou três espécies bacterianas e a *Pg* foi a espécie mais comum. *Tf* foi isolada em apenas 2 casos e *Aa* em 7 casos. Já na análise microbiológica das placas ateromatosas foi observado *Aa* em duas amostras. As demais bactérias não foram identificadas. Apesar da pequena porcentagem de identificação dos periodontopatógenos nas placas ateromatosas, os autores concluíram que a identificação de *Aa* no biofilme e nas placas dos

mesmos pacientes pode indicar o papel dos patógenos periodontais na doença aterosclerótica.

No ano de 2007, um estudo semelhante foi realizado por Romano *et al.* com objetivo de identificar 5 periodontopatógenos (*Aa, Pi, Pg, Td e Tf*) em bolsas periodontais e em ateromas de carótida, nos mesmos pacientes. O estudo incluiu 21 pacientes com idade variando de 56 a 77 anos (8 mulheres e 13 homens), com pelo menos 12 dentes na boca e diagnóstico de doença periodontal crônica (caracterizada por bolsas periodontais com profundidade de sondagem maior e igual a 5mm). As amostras subgengivais foram coletadas com cone de papel absorvente estéril e as placas ateromatosas foram adquiridas após procedimento cirúrgico de endarterectomia. Dos 21 pacientes, 3 foram excluídos por apresentarem resultado negativo após amplificação do DNA dos ateromas. As amostras de biofilme restantes foram positivas para pelo menos um patógeno periodontal. A prevalência de *Tf, Pg, Pi, Td e Aa,* nas amostras de biofilme, foram: 72,22%, 61,11%, 55,56%, 50% e 33%, respectivamente e nenhum DNA bacteriano foi encontrado nas placas ateromatosas analisadas. Como conclusão, a presença de periodontopatógenos nas placas de ateroma não foi confirmada neste estudo, portanto, nenhuma correlação pode ser feita entre as bactérias periodontais e os microorganismos envolvidos nas lesões ateroscleróticas.

Outro trabalho realizado em 2007, por Aimetti *et al.,* analisou em 33 pacientes a presença de cinco periodontopatógenos (*Aa, Pi, Pg, Tf e Td*), tanto nos sítios com doença periodontal como nas placas ateroscleróticas coletadas por endarterectomia, nos mesmos pacientes. Os resultados deste estudo mostraram a presença de pelo menos uma das bactérias em todas as amostras periodontais. DNA bacteriano foi encontrado em 31 das 33 amostras de placa aterosclerótica. Entretanto, nenhuma das amostras foi positiva, para a presença de DNA bacteriano dos patógenos periodontais testados.

Elkaïm *et al.* (2008) investigaram a presença de 20 patógenos periodontais nas lesões ateroscleróticas e em vasos sanguíneos saudáveis, e associaram esta condição aos aspectos clínicos e microbiológicos. Vinte e dois pacientes foram incluídos neste estudo, respeitando os seguintes critérios de inclusão: pelo menos

14 dentes naturais, o paciente não poderia ter sido submetido a tratamento periodontal nos 6 meses prévios ao estudo, não ter feito uso de antibióticos 6 meses antes e não apresentar nenhuma outra alteração sistêmica. Antes do procedimento cirúrgico, foram avaliados os parâmetros clínicos periodontais índice de placa (IP), índice gengival (IG), sangramento sulcular à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS), retração gengival (RG) e perda de inserção (PI). Todos os pacientes com doença periodontal foram divididos em 2 grupos baseados em 3 critérios: média de PS, média de PI e porcentagem dos sítios com PS ≥ 4mm. 11 pacientes com média de PS das bolsas < 3mm, PI < 4mm e porcentagem de sítios com PS ≥ 4mm menor que 20%, foram incluídos no grupo periodontite crônica moderada generalizada. Os 11 pacientes restantes que apresentaram média de PS > 3mm, média de PI > 4mm e porcentagem de sítios com PS ≥ 4mm maior que 20%, foram incluídos no grupo periodontite crônica severa generalizada. As amostras bacterianas subgengivais foram coletas das 4 bolsas mais profundas de cada paciente, utilizando cones de papel absorvente para posterior extração de DNA. Durante a cirurgia de ponte de safena, realizada um dia após o exame periodontal, foram coletadas placas de ateromas, amostras da camada interna das artérias mamárias saudáveis e amostras das veias safenadas, para em seguida ser feita a análise microbiológica. Com relação as amostras periodontais, os resultados mostraram que 16 das 20 espécies bacterianas analisadas foram mais prevalentes no grupo com periodontite severa. *Porphyromonas gingivalis e Fusobacterium nucleatum* foram as bactérias detectadas em maiores níveis em ambos os grupos. Com relação às amostras vasculares, comparando os grupos, não houve diferença estatística significante em relação a prevalência de alguma das 20 espécies nas artérias mamárias. Diferenças significantes apareceram em 9 das 20 bactérias nas veias safenadas e para a prevalência de *Campylobacter rectus e Eikenella corrodens* nas placas de ateromas. Foi nítida a maior prevalência de bactérias no grupo com periodontite severa quando comparada ao grupo com periodontite moderada. Os autores concluíram que a presença dos patógenos periodontais nas placas aterosclerótica

e nos vasos aparentemente saudáveis, reflete o alto nível de bacteremia, levando a infecção das células endoteliais.

Mesmo diante da vasta literatura apresentada mostrando a presença do DNA bacteriano em placas ateromatosas, a sua contribuição para o início e progressão da doença aterosclerótica ainda precisa ser comprovada.

3. PROPOSIÇÃO

Avaliar pacientes com doença aterosclerótica coronariana obstrutiva (DACO), com indicação de angioplastia transluminal coronária percutânea e as possíveis interrelações microbiológicas com a presença da doença periodontal.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Seleção da amostra –

Este trabalho foi realizado em duas etapas, após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa para humanos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (Protocolo: 036/2008 – em anexo). A primeira etapa foi realizada no Centro de Hemodinâmica do serviço de Emergências do Coração de Piracicaba (EMCOR), no hospital Santa Isabel, da Santa Casa de Misericórdia de Piracicaba, no período de Setembro de 2007 a Julho de 2008. Durante esse período foram examinados, periodontalmente, 134 pacientes dentre os que seriam submetidos a procedimento de Angioplastia Transluminal Coronária Percutânea (ATCP), procedimento indicado após o exame de cateterismo e diagnóstico de Doença Aterosclerótica Coronariana Obstrutiva (DACO). Tal doença é caracterizada por um quadro clínico de estenose arterial maior ou igual a 70% de obstrução da luz do canal e isquemia evidenciada. Aqueles com diagnóstico clínico de doença periodontal crônica, com no mínimo 4 dentes com profundidade de sondagem ≥ 5mm, índice de placa > 30%, sangramento a sondagem > 30% e idade variando entre 40 e 80 anos, sem distinção de sexo ou raça, foram convidados a participar da pesquisa de forma voluntária, autorizando sua participação ao assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os 18 pacientes incluídos neste estudo foram examinados previamente ao procedimento cirúrgico de ATCP e selecionados seguindo os critérios de inclusão acima mencionados e os de exclusão citados a seguir.

Critérios de exclusão:

- Pacientes que tenham sido submetidos a tratamento periodontal nos 3 meses previamente ao estudo;
- Pacientes que tenham tomado antibiótico nos 3 meses previamente ao estudo;

Os pacientes foram examinados, por um único examinador previamente calibrado (índice Kappa = 0,90), no centro de Hemodinâmica do Emcor, em uma sala de preparação pré-operatória, sob a condição de iluminação (Luz branca

ambiente) e posição (cama de repouso reclinável) adequadas para o exame. Para o exame periodontal foi utilizado espelho bucal nº 5 (Millenium® – Brasil) e sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte de 1 a 15mm (Millenium® - Brasil), para determinação da extensão e severidade da doença periodontal, em todos os dentes presentes na boca dos pacientes. Foram avaliados os seguintes parâmetros clínicos: Profundidade de Sondagem - medida obtida a partir da margem gengival ao fundo da bolsa (PS), Sangramento à Sondagem (SS - Mühlemann & Son, 1971), Índice de Placa (IP – Ainamo & Bay, 1975) e número de dentes ausentes. Tais parâmetros foram anotados em uma ficha clínica periodontal adaptada especificamente para o estudo**.** O intervalo entre o exame periodontal e o procedimento de angioplastia teve duração média de duas horas.

4.2 Coleta das amostras do biofilme subgengival

Após o exame intra-bucal foram coletadas amostras do biofilme subgengival de todos os sítios com doença periodontal. A coleta da amostra de biofilme subgengival foi realizada após remoção, com gase, do biofilme supragengival presente. Foram utilizadas curetas Gracey estéreis (Millenium® - Brasil) para remoção de biofilme da porção mais profunda das bolsas periodontais. Em seguida, o material coletado foi armazenado em eppendorfs, recipiente plástico com capacidade de 1,5ml (Axygen® - USA), contendo Tris-EDTA (solução de armazenamento e transporte) para congelamento em freezer à – 20ºC. Posteriormente, foi realizada análise microbiológica, por meio da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), com o objetivo de detectar a presença dos microorganismos periodontopatogênicos (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia e Tannerella forshythensis*), principais bactérias que participam do início e progressão da doença periodontal.

4.3 Procedimento cirúrgico de Angioplastia Transluminal Coronária Percutânea (ATCP) e a coleta dos balões

Os procedimentos cirúrgicos de ATCP foram realizados pela equipe de médicos cardiologistas do centro de hemodinâmica de Piracicaba (Dr. Eduardo Lúcio Nicolela Junior e Dr. Humberto Magno Passos), com a presença do autor deste trabalho em todos os procedimentos. Esta é uma das técnicas de escolha para tratamento da Doença Aterosclerótica Coronariana Obstrutiva (DACO), realizada rotineiramente no centro de Hemodinâmica do serviço de Emergências do Coração de Piracicaba. É um procedimento realizado sob anestesia local, com acesso via artéria femoral por meio de uma pequena incisão, acima do ligamento inguinal, e punção da artéria com agulha calibre 18mm, 2 a 3cm acima da bifurcação femoral, até que o fluxo pulsátil seja obtido. Após a punção é colocado um introdutor plástico (Medtronic® – USA) (Figuras 1, 2, 3 e 4).

Figura 1 – anestesia local na região inguinal

Figura 2 – incisão de 2 a 3 cm da bifurcação femoral

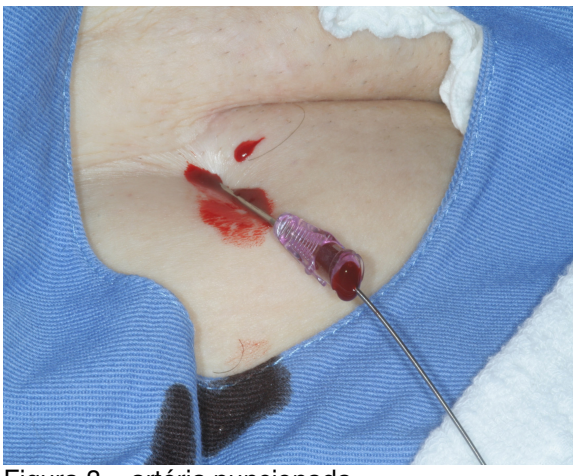

Figura 3 – artéria puncionada

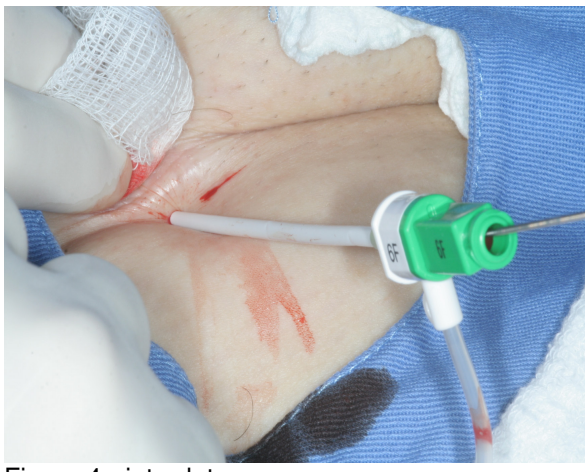

Figura 4 - introdutor

Em seguida, é inserido um catéter terapêutico (Medtronic® - USA) conduzido por um guia até o óstio da coronária (para identificação da região com estenose arterial caracterizada pela redução da luz do vaso sanguíneo) de forma delicada para evitar dissecção arterial. Todo o trajeto vascular é monitorado via captação de imagem, obtida após injeções seletivas de contraste (corante a base de iodo) na corrente sanguínea. Por meio do catéter terapêutico é introduzido um cateter-balão, confeccionado com polietileno e derivados (Boston Scientific® – Irlanda), conduzido por um guia até atingir a região da lesão. Após posicionar o cateter-balão na área lesionada, o mesmo é inflado para o esmagamento das placas ateroscleróticas e reanatomização da luz do vaso, devolvendo o fluxo sanguíneo normal, ou próximo do normal (Figuras 5, 6, 7, 8, 9,10, 11, 12 e13).

Figura 5 – catéter terapêutico e guia

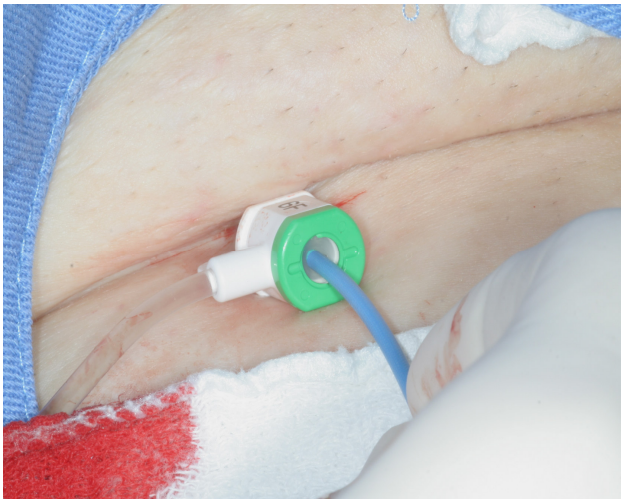

Figura 6 – introdução do catéter

Figura 7 – injeções seletivas de contraste

Figura 8 – equipamento de captação por imagens

Figura 9 – bomba de insuflar

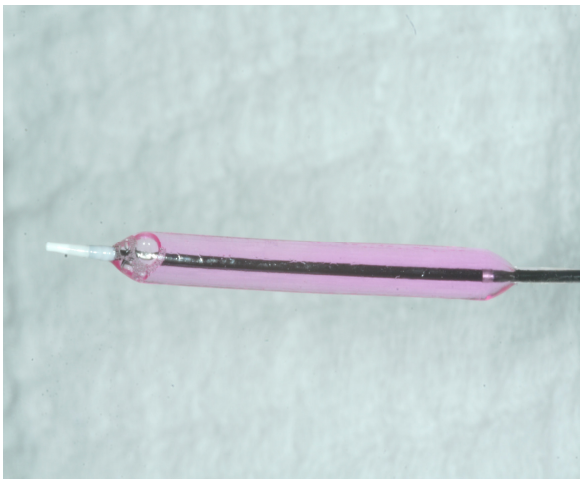

Figura 10 – cateter-balão de angioplastia

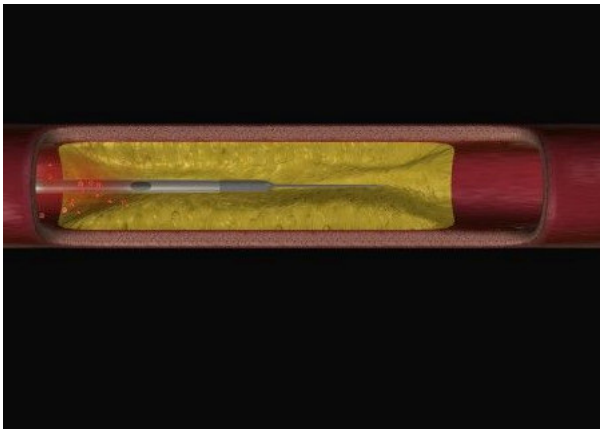

Figura 11 (esquemática) – introdução do catéter-balão de angioplastia na coronária
(fonte: Getty images)

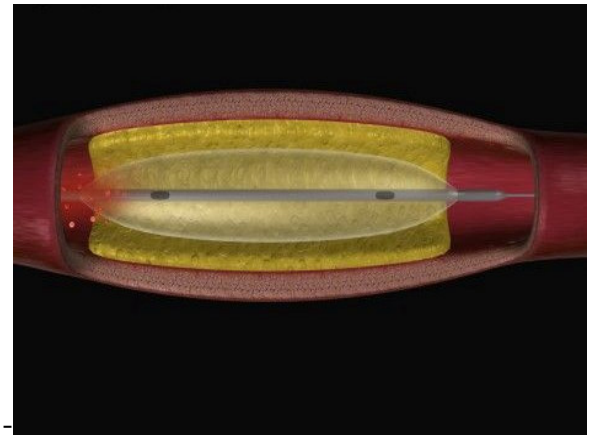

Figura 12 (esquemática) – cateter-balão sendo Inflamado para esmagamento da placa
(fonte: Getty images)

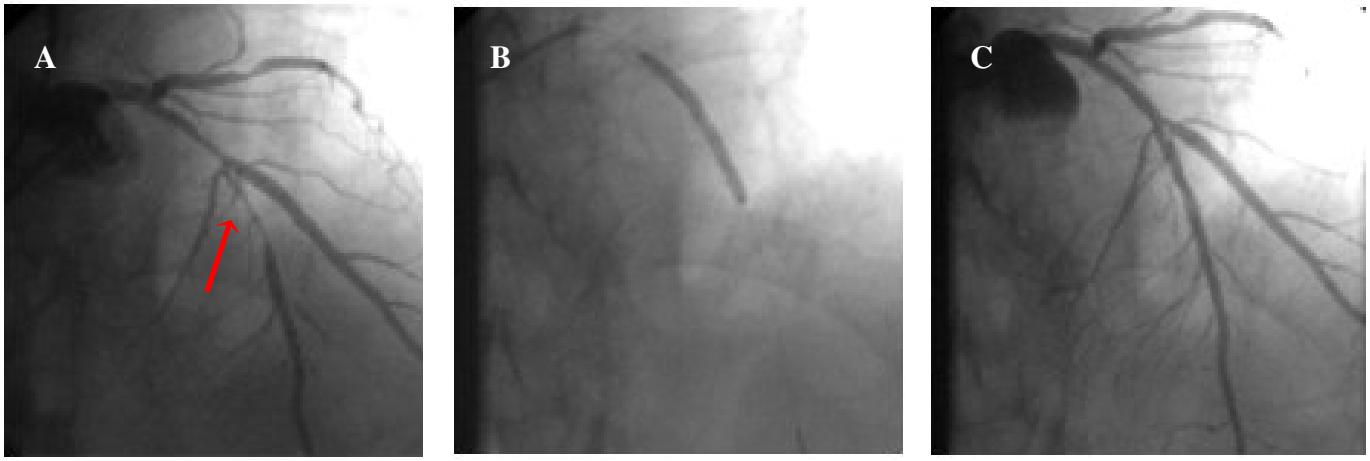

Figura 13 (A, B e C) – caso clínico ilustrativo, cedido pelo Centro de Hemodinâmica de Piracicaba – EMCOR.
A) A seta indica a lesão (estenose vascular proximal – artéria descendente anterior).
B) Balão de Angioplastia inflado para esmagamento da placa aterosclerótica.
C) Resultado final após reanatomização da artéria, devolvendo o fluxo sanguíneo normal.

Posteriormente ao procedimento de ATCP, os balões utilizados foram retirados cuidadosamente e colocados, também, em eppendorfs de 1,5ml contendo 300µL de uma solução tampão própria para conservação (TE - Tris EDTA) e congelamento em freezer à – 20ºC. Na seqüência, foi feita a análise da presença dos periodontopatógenos mencionados anteriormente, através das mesmas técnicas, já citadas, de identificação das espécies bacterianas. A coleta dos balões foi realizada com bastante cuidado, para que não houvesse contaminação do mesmo, sem alterar a conduta técnica de rotina para o procedimento de ATCP no centro de hemodinâmica **(Figura 14 e 15).**

Figura 14 – corte do balão

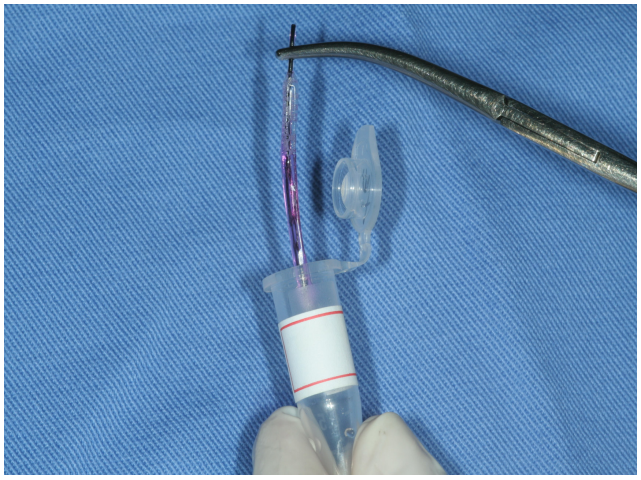

Figura 15 – armazenamento do balão de angioplastia em eppendorf 1,5ml

Os pacientes incluídos no trabalho foram esclarecidos sobre a sua condição periodontal e orientados a procurar um serviço especializado para tratamento odontológico periodontal adequado (Raspagem e alisamento radicular para descontaminação dos sítios periodontalmente comprometidos, reduzindo a carga bacteriana subgengival) para devolver uma condição de saúde bucal.

4.4 Técnica de amplificação do DNA pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A segunda etapa do trabalho consistiu na análise microbiológica das amostras coletadas, realizada no laboratório de microbiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas. O material

coletado da porção mais apical das bolsas periodontais (biofilme subgengival) e dos balões de angioplastia foram submetidos à análise microbiológica por meio da técnica da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), com o objetivo de detectar a presença dos periodontopatógenos (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia* e *Tannerella forshythensis*) amplificando uma seqüência específica de DNA para cada bactéria.

A técnica de PCR baseia-se em reações enzimáticas cíclicas de desnaturação pelo calor, hibridização dos oligonucleotídeos (*primers*) e síntese enzimática de DNA, resultando na amplificação exponencial da seqüência de DNA desejada, permitindo a identificação de seqüências de genes específicos, tais como genes de espécies bacterianas.

4.4.1 Extração de DNA

As amostras clínicas foram degeladas, submetidas à centrifugação (10000 rpm/10 minutos), seguida de remoção do sobrenadante (solução transporte TE - 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, pH 8.0). O precipitado resultante foi submetido à extração de DNA, segundo o protocolo de Saito *et al.* (2006), adaptado de Smith et al. (1998).

Uma alíquota de 700µL de tampão de extração foi adicionada à amostra e agitada ao vórtex, deixada por 30 minutos à 65^{o}C em banho-maria e homogeneizada suavemente a cada dez minutos.

Após a incubação, adicionou-se 650µL de CIA (clorofórmio:álcool isoamílico; 24:1), homogeneizou-se até formar uma emulsão. Depois de formada a emulsão, a amostra foi centrifugada (10000 rpm/10 minutos).

A fase aquosa formada após a centrifugação foi transferida para um novo tubo eppendorf de 1,5mL e adicionado 200µL de tampão de extração sem proteinase K; em seguida, adicionou-se novamente CIA, homogeneizou-se até formar uma emulsão. Depois de formada a emulsão, a amostra foi centrifugada (10000rpm/10 minutos). Novamente a fase aquosa formada foi transferida para outro tubo eppendorf.

A adição de CIA foi repetida por mais uma ou duas vezes, até obtenção de uma fase aquosa transparente e límpida. Após obtenção de tal fase, precipitou-se o DNA com adição de 650µL de álcool isopropílico à temperatura ambiente e nova centrifugação a 10000rpm/10 minutos foi realizada. Após a centrifugação removeu-se o álcool isopropílico e 50mL de álcool etílico a 70%, foi adicionado para lavar a superfície do DNA precipitado, sem ressuspender. Novamente o precipitado foi centrifugado, seguido da remoção do etanol. O tubo eppendorf foi deixado aberto até a secagem do precipitado.

Para finalizar, o DNA foi ressuspendido em 30µL de tampão Tris-EDTA (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, pH 8.0) com 10 µg/mL de RNAse e deixado em banho-maria à 37^{o}C por 30 minutos.

4.4.2 PCR

As reações de PCR foram padronizadas para cada *primer* (Tabela 1) utilizando-se como controle positivo o DNA genômico das cepas *A. actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *T. forsythensis* (ATCC 43037), *P. gingivalis* (W83) e *P. intermedia* (HG110); e água ultrapura deionizada (MilliQ, Millipore) foi utilizada como controle negativo. As reações de 25µL para PCR consistiram de H_20 milli-Q – 18,625µL; Tampão PCR 10X - 2,5 µL; dNTP 10mM – 0,5µL; $MgCl_2$ 50mM – 1,25µL; Primer direto 10µM– 0,5µL; Primer reverso 10µM – 0,5µL; 0,125µL TAQ DNA polimerase 5U/µL (Invitrogen do Brasil) e aproximadamente 10ng de DNA genômico, em volumes de 50µL. As condições térmicas para cada par de primers foram as seguintes, segundo Ashimoto *et al.* 1996 e Paster *et al*. 2001:

Gene 16S (D88 e E94): a reação inicia-se com a desnaturação do DNA à 95ºC por 45s, anelamento à 60ºC por 45s, extensão à 72ºC por 1mim e 30s, seguida de 30 ciclos, com adicional 5s em cada ciclo – finalizando a reação à 72ºC por 10mim.

***P. intermedia*:** a reação inicia-se com a desnaturação do DNA à 95ºC por 3min, seguida de 40 ciclos – fase de desnaturação à 94ºC por 1 minuto, fase de

hibridização dos primers à 54ºC por 1min, e fase de extensão à 72ºC por 2min – finalizando a reação à 72ºC por 10 minutos.

A. actinomycetemcomitans: a reação inicia-se com a desnaturação do DNA à 94°C por 5mim, seguida de 40 ciclos – fase de desnaturação à 94°C por 1 mim, fase de hibridização dos primers à 55°C por 1mim, e fase de extensão à 72°C por 1mim e 30s – finalizando a reação à 72°C por 10mim.

T. forsythensis**:** a reação inicia-se com a desnaturação do DNA à 95ºC por 2 min, seguida de 40 ciclos – fase de desnaturação à 95ºC por 30 segundos, fase de hibridização dos *primers* à 60ºC por 1 min, e fase de extensão à 72ºC por 1min – finalizando a reação à 72ºC por 2 minutos.

P. gingivalis: a reação inicia-se com a desnaturação do DNA à 94ºC por 5min, seguida de 40 ciclos – fase de desnaturação à 94ºC por 1min, fase de hibridização dos *primers* à 54 ºC por 1min, e fase de extensão à 72ºC por 1min – finalizando a reação à 72ºC por 2 minutos.

Um total de 10μL das reações de PCR foram, em seguida, analisadas em géis de agarose a 1,5% (preparados a 8V/cm em tampão Tris-Borato EDTA), corados com brometo de etídio (5μg/mL), e as bandas foram observadas com auxílio de um transluminador de luz ultravioleta. Foi incluído, em cada gel, um padrão de peso molecular de 100 pb (Invitrogen do Brasil). Todas as reações foram realizadas em duplicata.

TABELA 1. Primers específicos para cada bactéria periodontopatogênica

Periodontopatógenos	**Pares de primers (5' – 3')**
16S (D88, E94)	GAGAGTTTGATYMTGGCTCAG GAAGGAGGTGWTCCARCCGCA
Prevotella intermedia	TTT GTT GGG GAG TAA ACG GGG TCA ACA TCT CTG TAT CCT GCG T
Aggregatibacter actynomicetemcomitans	AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT
Tannerella forsythensis	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T
Porphyromnas gingivalis	AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT

4.4.3 Eletroforese

As amostras, após a reação de PCR, foram conservadas à 4°C para posterior análise ou analisadas imediatamente por eletroforese em gel de agarose 1,5% (Gibco BRL - Life Technology) em tampão tris-borato-EDTA. Foi incluído, em cada gel, um padrão de peso molecular de 100 pb ou 1 Kb (DNA ladder, Gibco BRL - Life Technology), respectivamente para os *primers* espécie-específicos ou para o gene 16S rRNA. Após o término de cada corrida, o gel foi corado com brometo de etídio e as bandas foram observadas com auxílio de um transiluminador de luz ultravioleta.

Ao final das análises microbiológicas do biofilme subgengival e dos balões, os resultados foram comparados entre si.

4.5 Análise Estatística

Para analisar a associação entre a presença de microorganismos nos sítios orais e nos balões, retirados de angioplastias, foi utilizado o teste estatístico McNemar, com nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

Dos 134 pacientes examinados no Centro de Hemodinâmica do serviço de Emergências do Coração de Piracicaba (EMCOR), no período de Setembro de 2007 a Julho de 2008, 18 apresentaram doença periodontal crônica, diagnosticada seguindo os critérios de inclusão citados na metodologia do trabalho. Trinta e um pacientes eram desdentados e 13 tinham saúde periodontal. Os demais pacientes foram excluídos por estarem sob tratamento com antibióticos, por terem sido submetidos a tratamento periodontal a menos de três meses previamente ao exame periodontal, para seleção das amostras deste estudo, e por não terem aceitado participar voluntariamente da pesquisa.

Os 18 pacientes incluídos neste estudo apresentaram idade variando de 40 a 79 anos (média de 59,5 ± 19,5 anos). Deste grupo 38,9% eram do sexo feminino e 61,1% do sexo masculino. Eram fumantes 55,6% e não fumantes 44,4%. Um total de 66,7% eram hipertensos e 33,3% não hipertensos. Diabéticos 22,2% e não diabéticos 77,8%. Quando questionados quanto à presença de familiares (Pai, mãe e irmãos), apresentando também alterações cardiovasculares, 77,8% relataram que sim e 22,2% que não. Em relação aos dentes presentes, em média os pacientes tinham 16,5 dentes (Tabela 4 – em anexo).

Após análise microbiológica pela reação em cadeia de polimerase, dos 18 balões de angioplastia analisados, 8 (44,4%) foram positivos para um ou mais microorganismos. *Tannerella forsythensis (Tf)* foram detectados em 7 (38,9%) das amostras. *Porphyromonas gingivalis (Pg)* foram encontradas em 2 (11,1%). Nenhuma amostra de balão foi positiva para *Prevotella intermédia (Pi) e para Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa).* (Tabela 3, em anexos).

Todos os pacientes tiveram amostras intra-orais analisadas quanto à presença dos mesmos patógenos periodontais já citados. Os resultados mostraram que 100% das amostras apresentaram um ou mais periodontopatógenos. *Tf* foi encontrado em 17 (94,4%) das amostras de biofilme, *Pi* em 11 (61,1%), *Pg* positivo em 13 (72,2%) e *Aa* em 5 (27,8%). (Tabela 3, em anexos).

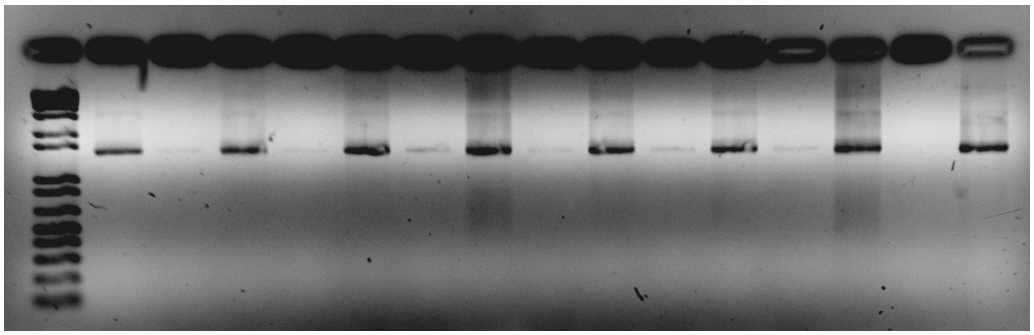

Imagem invertida do gel de agarose após a técnica de PCR para 16S, mostrando a presença de bactéria em todas as amostras (poços 1 a 13 – biofilme e balão na seqüência, poço 14 controle negativo e 15 controle positivivo).

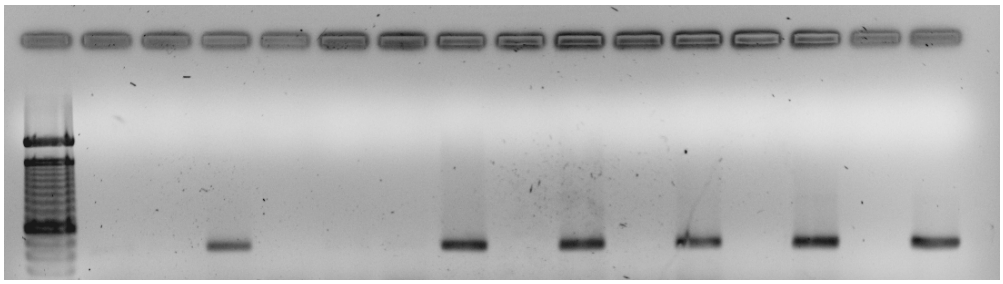

Imagem invertida do gel de agarose após técnica de PCR para *Pg* (poços 1 a 13 – biofilme e balão na seqüência, poço 14 controle negativo e 15 controle positivivo).

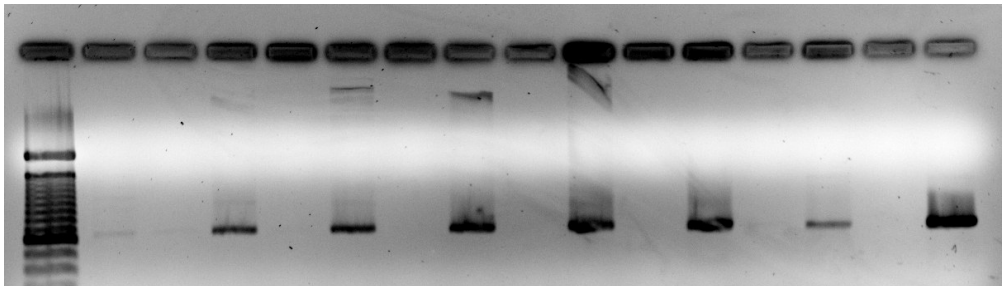

Imagem invertida do gel de agarose após técnica de PCR para *Tf* (poços 1 a 13 – biofilme e balão na seqüência, poço 14 controle negativo e 15 controle positivivo).

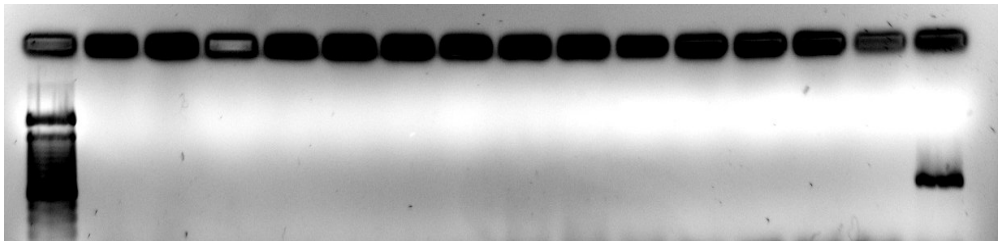

Imagem invertida do gel de agarose após técnica de PCR para *Aa* (poços 1 a 13 – biofilme e balão na seqüência, poço 14 controle negativo e 15 controle positivivo).

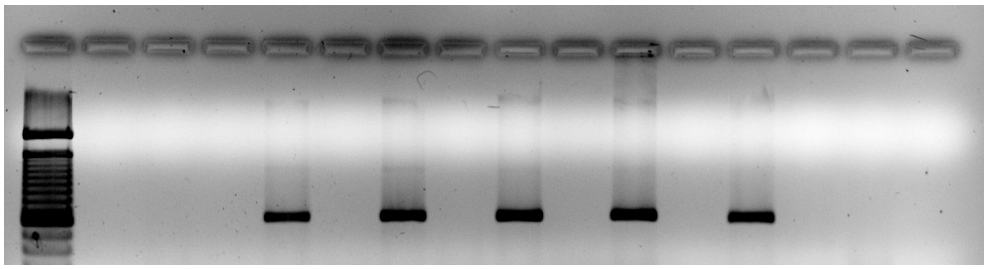

Imagem invertida do gel de agarose após técnica de PCR para *Pi* (poços 1 a 13 – biofilme e balão na seqüência, poço 14 controle negativo e 15 controle positivivo).

A associação da presença dos patógenos periodontais no biofilme e no balão, concomitantemente, indicou que o patógeno periodontal *Tannerella forsythensis* esteve presente tanto nos balões quanto nas amostras de biofilme subgengival em 7 (41,2%) dos casos. O patógeno periodontal *Porphyromonas gingivalis* esteve presente tanto nos balões quanto nas amostras de biofilme subgengival em 2 (15,4%) dos casos. O patógeno *Prevotella intermédia* não esteve presente em nenhum dos casos, o mesmo acontecendo com patógeno *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Tabela 2). Contudo, o teste McNemar não indicou uma associação significante entre a presença dos periopatógenos no biofilme e no balão de angioplastia (Tabela 2).

Tabela 2. Freqüência de detecção dos periodontopatógenos no biofilme e no balão de angioplastia, por meio do teste de PCR.

	Tf		Pi		Pg		Aa	
	sim	não	sim	não	sim	não	sim	não
biofilme	17	1	11	7	13	5	5	13
balão	7	11	0	18	2	16	0	18
McNemar	p	0,002*	p	0,001*	p	0,001*	P	0,001*

* Não houve correlação entre o biofilme e o balão de angioplastia (p>0,05)

6. DISCUSSÃO

Muitos estudos têm sugerido uma possível associação entre as doenças periodontais e a extensão e severidade das doenças cardiovasculares (Mattila *et al.* 1989; Mattila *et al.* 1993; Mattila *et al.* 1995; DeStefano *et al.* 1993; Beck *et al.* 1996). Entretanto, uma completa evidência ainda não foi estabelecida neste campo, principalmente, porque outros estudos que questionam esta associação têm sido publicados nos últimos anos (Hujoel *et al.* 2000; 2001; 2002; Romano *et al.* 2007) .

Estudos experimentais têm demonstrado a habilidade de alguns periodontopatógenos em interagir com a superfície endotelial, induzindo leve proliferação celular e liberando citocinas inflamatórias locais (Libby *et al.* 1989; Offenbacher, 1996; Deshpande *et al.* 1998). Dentro deste contexto, a forma mais segura para determinar o papel potencial das bactérias periodontopatogênicas no início, desenvolvimento e progressão da ateroslcerose, é identificando as bactérias periodontais específicas nas placas ateroscleróticas humanas. Entretanto, a literatura é muito contraditória nesse sentido. Alguns estudos identificaram nas placas ateroscleróticas somente as *P. gingivalis* (Chiu, 1999); outros associam a presença desta bactéria à presença de *P. intermédia, T. forsythensis e A. actnomycetemcomitans* (Haraszthy *et al.* 2000; Ishihara *et al.* 2004). Por outro lado, Cairo *et al.* 2004 não identificaram nenhuma espécie de patógenos periodontais nas amostras de carótida. Taylor-Robinson *et al.* (2002) identificaram *A. actnomycetemcomitans* e *P. intermédia*, mas não *Treponema denticola, P. gingivalis e Tannerella. forsythensis;* e o estudo de Stelzel *et al.* (2002) detectou *P. gingivalis*, mas não detectou *A. actomycetemcomitans,* resultado semelhante ao do presente estudo. Tentando entender essa contradição dos resultados, pode-se observar uma discrepância na padronização das metodologias, desde o número e perfil das amostras, o diagnóstico periodontal, até a análise microbiológica.

O que se observa é que a ligação entre os dois processos imunoinflamatórios, a doença periodontal e aterosclerose, permanece como um

tópico controverso, tendo a relação de causalidade como ponto principal, destacando qual o real significado sistêmico da infecção periodontal. Recentemente, alguns estudos não dão suporte a esta associação, afirmando que são necessários estudos longitudinais mais bem controlados, que envolvam populações mais homogêneas e com análises microbiológicas mais específicas para os patógenos periodontais (Khader *et al.* 2004; Nakib *et al.* 2004).

O resultado deste trabalho revelou a presença de quase 100% dos patógenos periodontais *(Pg, Pi, Tf e,* em menor porcentagem, *Aa)* nas 18 amostras de biofilme subgengival. Este perfil microbiológico está de acordo e reforça as descobertas já obtidas, em estudos específicos anteriores, que investigaram a composição do biofilme subgengival em pacientes com doença periodontal crônica (Socransky *et al.* 1998; Ximenéz-Fyvie *et al*. 2000).

Em muitos estudos recentes o DNA de patógenos periodontais foi observado em diferentes artérias com aterosclerose, incluindo carótida e femoral (Stelzel *et al.* 2002; Taylor-Robinson *et al.* 2002). As bactérias mais frequentemente encontradas são *P. gingivalis, T. forsthensis, A. actinomycetemcomitans e P. intermédia.* No trabalho de Okuda *et al.* (2001) só *Treponema denticola* foi observado. Geralmente, a *P. intermedia* é encontrada em pequeno número de amostras; entretanto, no presente estudo esta espécie bacteriana não foi identificada em nenhuma das 18 amostras de balão de angioplastia. Este resultado está em consonância com o obtido por Padilla *et al.* (2006) e Romano *et al.* (2007), que também não encontraram *P. intermédia* em suas amostras.

Comparando os resultados deste estudo com o de Stelzel *et al.* (2002), que encontrou *P. gingivalis* em 4 das 23 amostras de placas ateroscleróticas analisadas (17,4%), o presente estudo também identificou um número bem pequeno desta bactéria, em 2 das 18 amostras (11,1%). Este resultado também pode ser comparado ao obtido por Fiehn *et al*. (2005) que encontrou *Pg* em 4,17% das amostras. Já em relação à presença de *Tannerella forsythensis (Tf),* o resultado deste estudo que encontrou a bactéria em 7 (41,2%) balões, pode ser correlacionado com os encontrados por Mastragelopulos *et al.* (2002) que

identificaram *Tf* em 30% das amostras, Haraszthy *et al.* (2000) também em 30%, Haraszthy *et al.* (2001) em 26% e Dias (2003) em 20,4%.

Segundo Romano *et al.* (2007), uma hipótese para esta colonização divergente de bactérias, nas placas ateroscleróticas, pode estar associado a uma habilidade específica de atração de algumas espécies bacterianas em relação a placa. Outro ponto é que a colonização bacteriana das placas de ateroma pode ser intermitente ou transitória, podendo alterar o perfil de colonização da sua superfície (Taylor-Robinson *et al*. 2002).

Revendo a literatura, observa-se que apenas um estudo utilizou os balões de angioplastia para as análises microbiológicas (Dias, 2003). Durante esta técnica, o balão usado para dilatação do lúmem do vaso coronariano rompe mecanicamente a placa aterosclerótica e expõe suas estruturas e componentes, permitindo sua análise pela biologia molecular, com amplificação do DNA pela reação em cadeia de polimerase, como foi realizado neste estudo. A grande maioria dos estudos coleta amostras da placa aterosclerótica, removida da luz do vaso estenosado, por meio da técnica de endarterectomia. No presente estudo, a opção por coletar amostras dos balões de angioplastia foi feita por ser o procedimento de rotina do centro de hemodinâmica de Piracicaba do Emcor; procedimento este cada vez mais realizado, por ser menos invasivo e por ter ótimos resultados, com taxa de mortalidade de menos de 1% associada a essa técnica.

Existem duas hipóteses que podem explicar a não identificação das bactérias periodontais, em alguns balões de angioplastia, pela análise microbiológica. A primeira pode estar relacionada com a “lavagem” que sofre o balão, pelo fluxo sanguíneo intravascular. A outra pode está relacionada ao atrito sofrido pela superfície do balão, contra a parede interna dos vasos, ao ser desinflado e retirado do sistema vascular. Ambas resultam no desprendimento e na perda do material aderido a superfície do balão, após o esmagamento das placas.

O método de análise microbiológica por meio de amplificação do DNA, pela reação em cadeia de polimerase, foi escolhido devido ao fato deste teste ser o

mais sensível de todos, além de ser mais simples e com resultados mais rápidos, quando comparado aos métodos de microscopia, cultura e sondas de DNA (Loesche, 1992; Zambor & Haraszthy, 1995; Wahlforts *et al.* 1995)

Até o ano de 2003, nenhum estudo tinha sido realizado analisando a presença e a correlação de microorganismos patogênicos periodontais tanto em amostras intra-orais quanto em placas aterosclerótica coronarianas do mesmo indivíduo. Com esse propósito, foi feita a coleta de amostras subgengivais por meio de curetas Gracey, estéreis, para remover uma maior quantidade de biofilme, diferente do que acontece na maioria dos trabalhos que utilizaram cones de papel absorvente (Cairo *et al.* 2004; Padilla *et al.* 2006; Romano *et al.* 2007; Elkaïm *et al.* 2008). O intuito desta abordagem foi diminuir os riscos de uma coleta de biofilme de pouca expressão gênica.

A causa da aterosclerose ainda é incerta, mas se sabe da sua relação direta com vários fatores de risco. Os fatores mais freqüentemente mencionados na literatura são a idade, sexo, história familiar (carga genética), nível de lipídios no soro, dieta, hipertensão, fumo e diabetes (Beck *et al.* 1999). O que se observa é que um só fator não é responsável pelo desenvolvimento da aterosclerose coronariana, mas a união dos fatores contribui para o seu desenvolvimento. Evidências sugerem que a modificação dos fatores de risco, passíveis de controle, como o fumo, a hipertensão, o nível de colesterol no sangue e diabetes, pode reduzir e modificar os efeitos clínicos da doença (Levy, 1986). Apesar de não ter sido objetivo deste estudo, a observação do prontuário médico, da amostra selecionada, apresentou fatores de riscos gerais semelhantes aos descritos na literatura, como mostrado nos resultados (Ver tabela 4, anexo).

Page, 1998, descreveu o novo paradigma da patologia da periodontite, que pode levar a suscetibilidade a outras doenças sistêmicas, como as doenças cardiovasculares, e ser responsável pelo nascimento de bebês pré-maturos e de baixo peso. Alguns estudos já mostraram indivíduos com manifestação clínica de doença cardiovascular ou infarto, ou derrame cerebral, apresentando mais infecções dentais severas, do que os do grupo controle, sem doença. Com esses resultados, a severidade das infecções dentárias parece está correlacionada com

a severidade da aterosclerose coronária (Mattila *et al*. 1993; Grau *et al.* 1997; Wu *et al.* 2000). O fato de a doença periodontal estar associada a outras doenças sistêmicas expandiu os limites da periodontia, não sendo tratada mais como uma infecção de repercussão apenas local. Um resultado um pouco diferente ao do estudo de Page foi encontrado por Mattila *et al.* (2000), após investigarem 85 pacientes com doença cardiovascular e 53 controles. Os autores observaram que os índices de infecção dental foram mais altos nos pacientes com doença cardiovascular do que o controle, mas a diferença não foi estatisticamente significante, levando-os a concluir que o papel das infecções dentais como fator de risco para as doenças cardiovasculares varia de acordo com as características da população estudada. Esta informação pode ser perfeitamente atribuída ao presente estudo, uma vez que os resultados, também, não mostraram associação estatisticamente significante, apesar de terem sido encontrados patógenos periodontais nas placas aterosclerótica.

Da mesma forma como foi observado no estudo de Mattila *et al.* (2000), a diversidade da população é um ponto importante a ser considerado quando correlacionado os resultados dos trabalhos publicados. A amostra do presente estudo apresentava características clínicas bem peculiares de uma população de baixa condição socieconômica, destacando o grande número de pacientes desdentados atendidos no serviço do centro de hemodinâmica do Emcor.

Apesar dos resultados observados neste estudo não mostrarem correlação entre os patógenos periodontais, presentes no biofilme subgengival e nos balões de angioplastia, é importante destacar o papel do cirurgião-dentista na eliminação dos focos de infecção bucal. O tratamento odontológico intervencionista participa diminuindo as alterações dos níveis dos marcadores sistêmicos da inflamação, reduzindo, desta forma, a atividade inflamatória nas lesões ateroscleróticas (Loos *et al.* 2000). Como mostrado por D'Aiuto *et al.* (2004) o efeito sistêmico da terapia periodontal básica (raspagem e alisamento radicular) é suficiente para reduzir de forma significante os níveis sistêmicos da proteína C-reativa (PCR) e da Interleucina-6 (IL-6), principais marcadores inflamatórios das doenças cardiovasculares.

Por fim, deve ser enfatizado que ainda existe uma deficiência nos trabalhos que comprovam um papel causal das infecções periodontais sobre a aterosclerose. É importante ressaltar, que não se deve perder o objetivo de realizar estudos longitudinais que possam testar a realidade do conceito e fornecer mais informações biológicas, de como os patógenos periodontais podem predispor à aterogênese.

7. CONCLUSÃO

Dentro dos limites deste estudo, pôde-se concluir que:

Apesar de terem sido encontradas amostras de dois patógenos periodontais (*Porphyromonas gingivalis e Tannerella forsythensis*) nos balões de angioplastia e no biofilme subgengival, esta correlação não foi estatisticamente significante; não permitindo a afirmação de que exista associação causal, na amostra estudada, entre a doença periodontal e a doença aterosclerótica coronariana obstrutiva.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Abegunde DO, Mathers CD, Adam T, Ortegon M & Strong K. The burden and costs of chronic diseases in low-income and middle-income countries. Lancet 2007; 370: 1929–1938.
- AHA 2003. International cardiovascular disease statistics. Dallas, Tx – American Heart Association.
- Aimetti M, Romano F, Nessi F. Microbiologic analysis of periodontal pockets and carotid atheromatous plaques in advanced chronic periodontitis patients. J Periodontol 2007; 78: 1718-1723.
- Andrei AM, Fraguas RJr, Telles RM, et al. Major depressive disorder and inflammatoryinflammatory markers in elderly patients with heart failure. Psychosomatics 2007; 48: 319–324.
- Andriankaija OM et al. The use of different measurements and definitions of periodontal disease in the study of the association between periodontal disease and risk of myocardial infarction, J Periodontol. 2006; 77: 1067-1073.
- Andriankaja OM, Genco RJ, Dorn J, Dmochowski J, et al. Periodontal disease and risk of myocardial infarction: the role of gender and smoking. European Journal of Epidemiology 2007; 22: 699–705.
- Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontal lesions. Oral Microbiol Immunol 1996; 11: 266-273.
- Balkau B, Deanfield JE, Després JP, et al. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference,

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseado na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancourver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. Circulation 2007; 116: 1942–1951.

- Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, et al. Treating to new targets investigators. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. New England Journal of Medicine 2007; 357: 1301–1310.
- Bayless R et al. the teeth and infective endocarditis. British Heart Journal 1984; 50: 506-12.
- Beck J, Garcia R, Heiss G, et al. Periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol 1996; 67: 1123-1137.
- Beck JD, Offenbacher S, Williams RC, Gibbs P, Garcia K. Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease? Ann Periodontol 1998: 3: 127-141.
- Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: Epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol 2005;76:2089-2100.
- Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol. 2005 Nov; 76 (11 suppl): 2089-100.
- Berk B, Weintraub W, Alexander R. Elevation of C-reactive protein in “active” coronary artery disease. Am J Cardiol 1990; 65: 168-172.
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. Circulation 1995; 91: 2488-96.
- Biasucci LM, D’Onofrio G, Liuzzo G, Zini G et al. Intracellular neutrophil myeloperoxidase ia reduced in unstable angina and acute myocardial infarction, but its reduction is not related to ischemia. J Am Coll Cardiol. 1996; 27: 611-616.
- Bogers RP, Bemelmans WJ, Hoogenveen RT, et al. Association of overweight with increased risk of coronary heart disease partly

independent of blood pressure and cholesterol levels: a meta-analysis of 21 cohort studies including more than 300 000 persons. Archives of Internal Medicine 2007; 167: 1720–1728.

- Borges-Yáñez SA, Irigoyen-Camacho ME & Maupomé G. Risk factors and prevalence of periodontitis in communitydwelling elders in Mexico. Journal of Clinical Periodontology 2006; 33: 184–194.
- Borrell LN, Beck JD & Heiss G. Socioeconomic disadvantage and periodontal disease: the Dental Atherosclerosis Risk in Communities study. American Journal of Public Health 2006a; 96: 332–339.
- Borrell LN, Burt BA, Warren RC & Neighbors HW. The role of individual and neighborhood social factors on periodontitis: the third National Health and Nutrition Examination Survey. Journal of Periodontology 2006b;77: 444–453.
- Bourassa MG, Alderman EL, Betrand M et al. Report of the joint ISFC WHO, task force on coronary angioplasty. Circulation. 1988; 78:780-9.
- Braunwald E. Shattuck lecture – cardiovascular medicine at the turn of the millennium: Triumphs, concerns, and opportunities. N Engl J Med 1997; 337: 1360-1369.
- Buhlin K, Gustafsson A, Ahnve S, Janszky I, et al. Oral health in women with coronary heart disease. Journal of Periodontology 2005; 76: 544–550.
- Cairo F, Gaeta C, Dorigo W, et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques – a controlled clinical and laboratory trial. J Periodont Res 2004; 39: 442-446.
- Cairo F, Gaeta C, Dorigo W, Oggioni MR, Pratesi C, Pini Prato GP, Pozzi G. Periodontal pathogens in atheromatous plaque. A controlled clinical and laboratory trial. J Periodontal Res. 2004 Dec;39(6): 442-6.
- Carmona IT et al. An update on the controversies in bacterial endocarditis of oral origin. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics 2002; 93: 660-70.

- Chen LP, Chiang CK, Chan CP, Hung KY, Hurang CS. Does periodontitis reflect inflammation and malnutritionstatus in hemodialysis patients? Am J Kidney Dis 2006; 47: 815-822.
- Chiu B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. Am Heart J 1999; 138(5): 534-536.
- Choi JI, Chung SW, Kang HS, et al. Establishment of porphyromonas gingivalis heat-shock-protein-especific T-cell lines from atherosclerosis patients. J Dent Res 2002; 81:344-348.
- Chun YH, Chun KR, Olguin D, Wang HL. Biological foundation for periotontitis as a potential risk factor for atherosclerosis. J Periodontal Res. 2005 Feb; 40 (1): 87-95.
- Conner HD, et al. Bacteremias following periodontal scalling in patients with healthy appeaing gingiva. J Periodontol 1967; 38(6): 466-472.
- Conrads G, et al. PCR reaction and dot-blot hybridization to monitor the distribution of oral pathogens within plaque samples of periodontally healthy individuals. J Periodontol 1996; 67(10): 994-1003.
- Cueto A, Mesa F, Ocaña-Riola R. Periodontitis as risk factor for acute myocardial infarction. A case control study of Spanish adults. J Periodontal Res 2005; 40(1)/ 36-42.
- D'Aiuto F, Pakar M, Andreou G, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and atherogenesis: causal association or simple coincidence? J Clin Periodontol. 2004 May; 31 (5): 402-11.
- DallaVecchia CF, Susin C, Rösing CK, Oppermann RV & Albandar JM. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. Journal of Periodontology 2005; 76: 1721–1728.
- Daly CG et al. Bacteremia caused by periodontal probing. Augst Dent J. 1997; 42(2): 77-80.
- Daly CG t al. Bacteremia due to periodontal probing: a clinical and microbiological investigation. J Periodontol. 2001; 72(2): 210-214.

- Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: Is there a link? Lancet 1997; 350: 430-436.
- Danesh J, Collins R. Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease. Meta-analyses of prospective studies. JAMA 1998; 279: 1477-1482.
- De Servi S, Ricevuti G, Mazzone A, Ghio S et al. Granulocyte function in coronary artery disease, Am J Cardiol 1991; 68: 64-68B.
- Deshpande RG, Khan MB, Genco CA. Invasion of aortic and heart endothelial cells by Prophyromonas gingivalis. Infect Immun 1998; 66: 5337-5343.
- DeStefano F, Anda R, Kahn HS, et al. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. BMJ 1993; 306: 688-691.
- Desvarieux M, Schwahn C, Völzke H, Demmer R T, et al. Gender differences in the relationship between periodontal disease, tooth loss, and atherosclerosis. Stroke 2004; 35: 2029–2035.
- Dias, Lenize Zanotti Soares. Doença periodontal como fator de risco para doença cardiovascular – (Tese de doutorado). Vitória [s.n.], 2003.
- Dorn BR, Dunn WA Jr, Progluske-Fox A. Invasion og human coronary artery cells by periodontal pathogen. Infect Immun 1999; 67: 5792-5798.
- Doyle, J.J.T., Doyle, J.L.. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-18, 1990.
- Ebersole JL & Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. Periodontol 2000; 23: 19-49.
- Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ, Willman DE. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. Clin Exp Immunol. 1997; 107: 347-352.
- Elkaïm R, Dahan M, Kocgozlu L, et al. Prevalence of periodontal pathogens in subgingival lesions, atherosclerotic plaques and healthy blood vessels: a preliminary study. J Periodont Res 2008; 43: 224-231.

- Elter JR, White BA, Gaynes BN, et al. Relationship of clinical depression to periodontal treatment outcome. Journal of Periodontology 2002; 73: 441–449.
- Epstein SE, et al. Infections and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. Circulation 1999; 100(4): 20-28.
- Ernst E. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor-interrelationship with infections and inflammation. Eur Heart J. 1993; 14(suppl): 82-87.
- Favarato D & Da Luz PL. Aterosclerose não associada à hipercolesterolemia. Ver Soc Cardiol Est SP. 1998; 8: 356-65.
- Fiehn NE, Larsen T, Christiansen N, Holmstrup P, Schroeder TV. Identification opf periodontol pathogens in atherosclerotic vessels. J Periodontol. 2005 May; 76 (5): 731-6.
- Fiehn N-E, Lasen T, Christiansen N, et al. Identification of periodontal pathogens in atherosclerotic vessels. J Periodontol 2005; 76: 731-736.
- Figueredo CM, Gustafsson A, Asman B & Bergtrom K. Increased release of elastase from in vitro activated peripheral neutrophils in patients with adult periodontitis. J Clin Periodontol 1999; 26: 206-11.
- Forner L, Larsen T, Kilian M Holmstrup P. Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and periodontal inflammation. J Clin Periodontol 2006; 33:401-407.
- Fox CH. New considerations in the prevalence of periodontal disease. Curr Opin Dent 1992; 2: 5-11.
- Geerts SO, Legrand V, Charpentier J, Albert A, Rompen EH. Further evidence of association between periodontal condition and coronary artery disease. J Periodontol. 2004 Sep; 75 (9): 1274-80.
- Gémes K, Ahnve S, Janszky I. Inflammation a possible link between economical stress and coronary heart disease. European Journal of Epidemiology 2008; 23: 95–103.
- Genco RJ et al. Cardiovascular disease and oral infections. In: Periodontal Medicine. Editora Ontário: BC Decker, 2000; p. 63-82.

- Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, et al. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. Journal of Periodontology 1999; 70: 711–723.
- Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. J Periodontol 1996; 67(suppl 10): 1041-9.
- Grau AJ, et al. Association between cerebrovascular ischemia and chronic and recurrent infection. Stroke 1997; 28(9): 1724-1729.
- Gruentzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. N Engl J Med 1979; 301: 61-68.
- Guntheroth WG. How important are dental procedures as a cause of infective endocarditis? American Journal of cardiology 1984; 54: 797-801.
- Gustafsson A & Asman B. Increased release of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fc delta-receptor atimulation. J Clin Periodontol. 1996; 23: 38-44.
- Guyton AC. O músculo cardíaco: o caração Omo bomba. In: Tratado de fisiolagia médica. 8ª Ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 1992a; p. 99-104.
- Haynes WG, Stanford C. Periodontal disease and atherosclerosis: From dental to arterial plaque. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 1309-1311.
- Haraszthy VI et al. Periodontal pathogens in atheromas from german population. Ann Periodontol 2001; 6(1):64.
- Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, et al. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. J Periodontol, 2000; 6: 64.
- Herzberg MC, MacFarlane GD, Gong K, et al. The platelet interactivity phenotype of Streprococcus sanguis influences the course of experimental endocarditis. Infect Immun 1992; 60(11): 4809-18.

- Herzberg MC & Meyer MW. Effects of oral flora on platelets: possible consequences in cardiovascular disease. J Periodontol 1996; 67: 1138-1142.
- Holmlund A, Holm G & Lind L. Severity of periodontal disease and number of remaining teeth are related to the prevalence of myocardial infarction and hypertension in a study based on 4,254 subjects. Journal of Periodontology 2006; 77: 1173–1178.
- Holm-Pedersen P, Russell SL, Avlund K, Viitanen M, Winblad B & Katz RV. Periodontal disease in the oldest-oldliving in Kungsholmen, Sweden: findingsfrom the KEOHS project. Journal of Clinical Periodontology 2006; 33: 376–384.
- Hujoel PP, Drangsholt M, Spiekerman C, et al. Examining the link between coronary heart disease and the elimination of chronic dental infections. J Am Dent Assoc 2001; 132: 883-889.
- Hujoel PP, Drangsholt M, Spiekerman C, et al. Periodontal disease and coronary heart disease risk. J Am Med Assoc 2000; 284: 1406-1410.
- Hujoel PP, Drangsholt M, Spiekerman C, et al. Pre-existing cardiovascular disease and periodontitis: a follow-up study. J Dent Res 2002; 81: 186-191.
- Inoue K, Kobayashi Y, Hanamura H, Toyokawa S. Association of periodontitis with increased white blood cell count and blood pressure. Blood Pressure 2005; 14: 53–58.
- Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, et al. Correlation between detection rates of peridontophathic bacterial DNA in carotic coronary stenotic artery plaque and in dental plaque samples. J Clin Microbiol 2004; 42: 1313-1315.
- Janket SJ et al. “Meta-analysis of periodontal disease and risk of corornary heart disease and stroke”. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics 2003; 95: 559-569.
- Juster HR, Loomis BR, Hinman TM, et al. Declines in hospital admissions for acute myocardial infarction in New York state after implementation of

a comprehensive smoking ban. American Journal of Public Health 2007; 97: 2035–2039.

- Kai H, Ikeda H, Yasukawa A et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and 9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. J AM Coll Cardiol 1998; 32: 368-72.
- Katz J, Flugelman MY, Goldberg A, Heft M. Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. Journal of Periodontology 2002; 73: 494–500.
- Khader YS, Albashaireh ZSM, Alomari MA. Periodontal diseases and risk of coronary hearth and cerebrovascular diseases: a meta-analysis. J Periodontol 2004; 75: 1046-53.
- Knox WK & Hunter N. The role of oral bacteria in the pethogenesis of infectives endocarditis. Australian Dental Journal. 19991; 4: 286-92.
- Kollveit KM, Eriksen HM. Is the observed association between periodontitis and atherosclerosis causal? Eur J Oral Sci 2001;109:2-7.
- Kornman KS, et al. Interleukin-1 genotypes and the association between periodontitis and cardiovascular disease. J Periodontal Res 1999; 34(7): 353-357.
- Kragel AH, Reddy SG, Wittes JT, Roberts WC. Morphometric analysis of the composition atherosclerotic plaques in the four major epicardial coronary arteries in acute myocardial infarction and in sudden coronary death. Circulation 1989; 80: 1747-56.
- Kragel AH, Reddy SG, Wittes JT, Roberts WC. Morphometric analysis of the composition of coronary arterial plaques in isolated unstable angina pectoris with pain at rest. Am J Cardiol 1990; 66: 562-7.
- Krustrup U & Petersen E. Periodontal conditions in 35-44 and 65-74-year-old adults in Denmark. Acta Odontologica Scandinavia 2006; 64: 65–73.
- Kuramitsu HK et al. Role for periodontal bacteria in cardiovascular diseases. Ann Periodontol 2001; 6(1): 41-47.

- Lafaurie GI, Mayorga-Fayad I, Torrs MF, et al. Periodontopathic microorganisms in peripheric blood after scaling and root planning. J Clin Periodontol 2007; 34: 873-79.
- Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA, et a. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 1405-1411.
- Lawlor D & Leon DA. Association of body mass index and obesity measured in early childhood with risk of coronary heart disease and stroke in middle age. Findings from the Aberdeeen children of the 1950s prospective cohort study. Circulation 2005; 111: 1891–1896.
- Lee HJ, Garcia RI, Janket SJ, Jones JA, et al. The association between cumulative periodontal disease and stroke historyin older adults. Journal of Periodontology 2006; 77:1744–1754.
- Leys D. Atherothrombosis: a major health burden. Cerebrovasc Dis 2001; 11(suppl 2): 1-4.
- Levy RI. Changing perspectives in the prevention of coronary artery disease. Am J Cardiol 1986; 57(14): 17-26.
- Li L, Messas E, Batista EL, et al. Porphyromonas gingivalis infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. Cirlation 2002; 105: 861-867.
- Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 547-558.
- Libby P, Friedman GB, Salomon RN. Cytokines as modulators of cell proliferation in fibrotic disease. Am Rev Respir Dis 1989; 140: 1114-1117.
- Linden G, Patterson C, Evans A & Kee F. Obesity and periodontitis in 60–70 year-old men. Journal of Clinical Periodontology 2007; 34: 461–466.
- Little JW & Falace DA. Ischemic heart disease. In: Dental management of medically compromised patient. Editora Chicago, Mosby 2000; p. 175-96.

- Liuzzo G, Biasucci L, Gallimore R, et al. the prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. N Engl J Med 1994; 331: 417-424.
- Loesche WJ. DNA probe and enzyme analysis in periodontal diagnostics. J Periodontol 1992; 63(12): 1102-1109.
- Lofthus JE et al. Bacteremia following subgengival irrigation and scalinf and root planning. L Periodontol. 1991; 62(10): 602-607.
- Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, et al. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. J Periodontol. 2000; 71: 1528-34.
- Mackenzie RS & Millard HD. Interrelated effects of diabetes, artherosclerosis and calculus on alveolar bone loss. JADA 1963; 66: 191-199.
- Mansur AJ et al. Infective endocarditis in the 1980s: experience at a heart hospital. Clinical Cardiology 1990; 13: 623-30.
- Maseri A, Biasucci LM, Liuzzo G. Inflammation in ischemic heart disease. Br Med J 1996; 312: 1049-1050.
- Mastragelopolus N, Haraszthy VI, Zambon JJ, et al. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. Preliminary results (in German). Chiurg 2002; 73: 585-591.
- Mattila KJ, et al. Age, dental infections and coronary heart disease. J Den Res 2000; 79(2): 756-760.
- Mattila KJ, Nieminem MS Valtonen VV, et al. Association between dental health and acute myocardial infarction. BMJ 1989; 298: 779-782.
- Mattila KJ, Nieminem MS Valtonen VV, et al. Dental infections abd coronary atheroclerosis. Atherosclerosis 1993; 103: 205-211.
- Mattila KJ, Valtonen VV, Nieminem MS, et al. Dental infections and the risck of new coronary events: prospective study of patients with documented coronary heart disease. Clin Infect Dis 1995; 20: 588-592.

- Mausbach BT, Von Känel R, Aschbacher K, et al. Spousal caregivers of patients with Alzheimer's disease show longitudinal increases in plasma level of tissue-type plasminogen activator antigen. Psychosomatic Medicine 2007; 69: 816–822.
- Mendall MA, Patel P, Asante M, et al. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. Heart 1997; 78: 273-77.
- Meurman JH, Sanz M, Janket SJ. Oral health, atherosclerosis and cardiovascular disease. Crit Rev Oral Biol Med 2004; 15: 403-413.
- Moncada S & Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med. 1993; 329: 2002-12.
- Mühleman HR & Son S. Gingival sulcus bleeding – a leading symptom in initial gingivitis. Helv Odontol Acta 1971; 15(2): 107-13.
- Nakib SA, Pankow JS, Beck JD, Offenbacher S, Evans GW, Desvarieux M, Folsom AR. Periodontitis and coronary artery calcification: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. J Periodontol. 2004 Apr; 75 (4): 505-10.
- Ng SK & Keung Leung W. A community study on the relationship between stress coping affective dispositions and periodontal attachment loss. Community Dentistry and Oral Epidemiology 2006; 34: 252–256.
- Nibali L, D'Aiuto F, Griffiths G, et al. Severe periodontitis is associated with systemic inflammation and a dysmetabolic status: a case–control study. Journal of Clinical Periodontology 2007; 34: 931–937.
- Nicholls SJ, Wolski K, Sipahi I, et al. Rate of progression of coronary atherosclerotic plaque in women. Journal of American College of Cardiology 2007; 49: 1546–1551.
- Noack B, Genco RJ, Trevisan M, et al. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. J Periodontol 2001; 72: 1221-1227.

- Nord CE, Heimdahl A. Csrdiovascular infections: bacterial endocarditis of oral origin. Pathogenesis and prophylaxis. J Clin Periodontol. 1990; 17(7): 494-96.
- Offenbacher S. Periodontal disease: pathogenesis. Ann Periodontol 1996; 1: 821-878.
- Onat A, Sari I, Yazici M, Can G, et al. Plasma triglycerides, an independent predictor of cardiovascular disease in men: a prospective study based on a population with prevalent metabolic syndrome. International Journal of Cardiology 2006; 108, 89–95.
- Overholser CD, Moreillon P, Galuser MP. Experimental bacterial endocarditis after dental extractions in rats with periodontitis I. J Infec Disease 1987; 155: 107-112.
- Overholser CD, Moreillon P, Galuser MP. Experimental bacterial endocarditis after dental extractions in rats with periodontitis II. J Infec Disease 1988; 155: 107-112.
- Padilla C, Lobos O, Hubert E, Gonzalez C, Matus S, Pereira M, Hasbun S, Descouvieres C. Periodontol pathegens in atheromatous plaque isolated from patients with chronic periodontitis. J Periodontal Res. 2006 Aug; 41 (4): 350-3.
- Pallasch TJ & Slots J. Antibiotic prophylaxis and the medically compromised patient. Periodontology 2000, 1996; 10:107-38.
- Paquette DW, Brodala N, Nichols TC. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection. Periodontology 2000, 2007; 44: 113-126.
- Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. J Clin Periodontol 2008; 35: 277-290.
- Paster BJ, Boches SK, Jamie L, *et al.* Bacterial diversity in human subgingival plaque. J Bacteriol 2001; Jun: 3770-3783.

- Pereira AH & Grutner MA. Angioplastia transluminal percutânea e Stents endovasculares. In: Angiologia e cirurgia vascular: guia ilustrado. Editora Maceió - Maceió, 2005; p. 1-16.
- Peres MA, Antunes JL, Boing AF, Peres KG & Bastos JL. Skin colour is associated with periodontal disease in Brazilian adults: a population-based oral health survey. Journal of Clinical Periodontology 2007; 34: 196–201.
- Persson RE, Hollender LG, Powell VL, MacEntee M, et al. Assessment of periodontal conditions and systemic disease in older subjects. II. Focus on cardiovascular diseases. J Clin Periodontol 2002; 29:803–810.
- Persson RE, Kiyak AH, Wyatt CC, Macentee M & Persson GR. Smoking, a weak predictor of periodontitis in older adults. Journal of Clinical Periodontology 2005b; 32: 512–527.
- Pupim LB, Caglar K, hakim RM, et al. Uremic malnutrition is a predictor of death independent of inflammatory status. Kidney Int 2004; 66: 2054-2060.
- Rahmati MA, Craig RG, Homel P, et al. Serum markers of periodontal disease status and inflammation in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 2002; 40: 983-89.
- Ramsay SE, Whincup PH, Morris RW, Lennon LT & Wannamethee SG. Are childhood socio-economic circumstances related to coronary heart disease risk? Findings from a population-based study of older men. International Journal of Epidemiology 2007; 36: 560–566.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP & Hennerkens CH. Inflammation, aspirin, and risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N Engl J Med 1997; 336: 973-979.
- Ridker PM. Glynn RJ & Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. Circulation 1998; 97: 2007-2011.

- Rivera JJ, Nasir K, Campbell C, Carvalho JA, et al. Relation of plasma lipoprotein levels with low-grade inflammation in white men without clinical evidence of myocardial ischemia. American Journal of Cardiology 2007; 100: 450–454.
- Romano F, Barbui A, Aimetti M. Periodontal pathogens in periodontal pockets and in carotid atheromatous plaque. Minerva Stomatol 2007; 56:169-179.
- Roos R. The pathogenis of atherosclerosis: perspective for the 1990. Nature 1993; 362:801-9.
- Rosenschein U, Ellis SG, Yakubov SJ et al. Histopathologic correlates of coronary lesion angiographic morphology.: lesions from a directional atherectomy experience. Coron Artery Dis 1992; 3: 953-61.
- Ross R & Glomset JA. The pathogenis of atherosclerosis. N Engl J Med. 1976; 295: 369.
- Ross R. The pathogenis of atherosclerosis. An update. N Engl J Med. 1986; 314: 488-500.
- Ryan TP, Faxon DP, Gunnar RM et al. Guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty. Circulation, 1988; 78:486-502.
- Saito D, Leonardo R de T, Rodrigues JL, Tsai SM, Höfling JF, Gonçalves RB. Identification of bacteria in endodontic infections by sequence analysis of 16S rDNA clone libraries. J Med Microbiol. 55: 101-107, 2006.
- Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, et al. Relationship between obesety, glucose tolerance, and periodontal disease in Japanese women: the Hisayama study. Journal of Periodontal Research 2005; 40: 346–353.
- Sallum AW, Martins AG, Sallum EA. A doença periodontal e o surgimento de um novo paradigma. In: PERIODONTIA MÉDICA: Uma abordagem integrada. Editora SENAC São Paulo 2004; p. 21-39.

- Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA, Kelley JL, Nerem RM. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. Clin Cardiol 1991; 14 (suppl I): 11-16.
- Shakir YA, Samsioe G, Khatibi EA, et al. Health hazards in middle- aged women with cardiovascular disease: a case–control study of swedish women. The women's health in the Lund area (WHILA) study. Journal of Womens Health 2007;16: 406–414.
- Shimazaki Y, Saito T, Yonemoto K, et al. Relationship of metabolic syndrome to periodontal disease in Japanese women: the Hisayama Study. Journal of Dental Research 2007; 86: 271–275.
- Silness J & Löe H. Periodontal disease in pregnancy – correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand 1964; 22: 112-135.
- Slade GD, Offenbacher S, Beck JD, et al. Aute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. J Dent Res. 2000; 79: 49-57.
- Slots J. Casual ou causal relationship between periodontal infection and non-oral disease? J Dent Res 1998; 77: 1764-1765.
- Smith GL, Socransky SS, Smith CM. Rapid method for the purification of DNA from subgingival microorganisms. Oral Microbiol Immunol. 4: 47-51, 1989.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C & Kent RL Jr. MIcrobiol complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998; 25: 134-144.
- Socransky SS. Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. J Clin Periodontol 1979; 6(7): 16-21.
- Sousa JEMR, Buchler JR, Pimentel Fº WA, Moraes AG. Angioplastia coronária transluminal percutânea. Arq Bras Cardial. 1980; 35: 1980.
- Souza AGMR, Staico R, Souza JEMR. Revascularização miocárdica percutânea: dos balões ao stents farmacológicos. Stent Coronário: aplicações clínicas. Editora Atheneu, São Paulo 2001; p. 1-10.

- Souza JEMR, Souza AGMR, Feres F. Angioplastia transluminal coronária: indicações e resultados atuais. Arq Bras Cardiol. 1988; 51: 69-76.
- Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis. American Heart Association. Circulation 1995; 92: 1355-74.
- Stelzel M et al. Detection of prophyromonas gingivalis DNA in aortic tissue by PCR. J Periodontol 2002; 73(8): 868-870.
- Taneva, E., Bogdanova, V. & Shtereva, N. Acute coronary syndrome, comorbidity,and mortality in geriatric patients. Annals of New York Academy of Science 2004; 1019: 106–110.
- Taylor CB, Conrad A, Wilhelm FH, et al. Psychophysiological and cortisol responses to psychological stress in depressed and nondepressed older men and women with elevated cardiovascular disease risk. Psychosomatic Medicine 2006b; 68: 538–546.
- Taylor-Robinson D, Aduse-Opoku J, Sayer P, et al. Oro-dental bacteria in various atherosclerotic arteries. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21: 755-757.
- Teo KK, Ounpuu S, Hawken S, et al. Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case–control study. Lancet 2006; 368: 647–658.
- Toledo BEC & Rossa Junior C. Influência das condições sistêmicas sobre as doenças periodontais e das doenças periodontais sobre as condições sistêmicas. In: Atualização em Periodontia e implantodontia. 3ª edição. Editora Artes Médicas, São Paulo 1999; p. 30-60.
- Valle PV, Baptista EM. Doenças da aorta. In: HEMODINÂMICA E ANGIOGRAFIA. Editora Atheneu, São Paulo; p. 585-614.

- Völzke H, Schwahn C, Dörr M, Aumann N, et al. Inverse association between number of teeth and left ventricular mass in women. Journal of Hypertension 2007; 25: 2035–2043.
- Völzke H, Wolff B, Lüdemann J, et al. Seropositivity for anti-Borrelia IgG antibody is independently associated with carotid atherosclerosis. Atherosclerosis 2006;184: 108–112.
- Wahlfords J, et al. Simultaneous detection of Actinobacillus astinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis by a rapid PCR method. J Dent Res 1995; 74(11): 1796-1801.
- Wimmer G, Janda M, Wieselmann-Penkner K, et al. Coping with stress: its influence on periodontal disease. Journal of Periodontology 2002; 73: 1343–1351.
- Wu T, et al. Examination of the relation between periodontal health status and ardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholsterol, C-reactive protein, and plasm fibrinogen. Am J Apidemiol 2000; 151(3): 273-282.
- Wu T, Trevisan M, Genco RJ, et al. Examination of the relation between periodontal health status and cardiovascular risk fators: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. Am J Epidemiol. 2000; 151: 273-282.
- Ximenéz-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. J Clin Periodontol 2000; 27: 722-32.
- Zambor JJ, Haraszthy VI. The laboratory diagnosis of periodontal infections. Periodontol 2000, 1995; 7(1): 69-82.

9. ANEXOS

Tabela 3. Descrição da freqüência de detecção dos periodontopatógenos no biofilme e no balão de angioplastia.

	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA							
	Bf		Pi		Pg		Aa	
PACIENTES	BIOFILME	BALÃO	BIOFILME	BALÃO	BIOFILME	BALÃO	BIOFILME	BALÃO
1	1	1	0	0	1	1	0	0
2	1	0	1	0	1	0	0	0
3	1	0	0	0	1	1	0	0
4	1	0	0	0	1	0	0	0
5	1	0	1	0	1	0	0	0
6	1	1	0	0	1	0	0	0
7	1	1	0	0	1	0	0	0
8	1	1	0	0	0	0	1	0
9	1	0	1	0	1	0	0	0
10	1	1	1	0	0	0	0	0
11	1	1	1	0	0	0	1	0
12	1	0	1	0	1	0	1	0
13	1	0	1	0	1	0	0	0
14	1	1	0	0	0	0	1	0
15	0	0	1	0	1	0	1	0
16	1	0	1	0	1	0	0	0
17	1	0	1	0	1	0	0	0
18	1	0	1	0	0	0	0	0

Tabela 4. Descrição dos fatores de risco para cada paciente incluído no estudo.

PACIENTES COM DOENÇA PERIODONTAL E ATEROSCLEROSE CORONARIANA									
NOME	**IDADE**	**SEXO**	**GENÉTICA**	**FUMO**	**DIABETES**	**HIPERTENSÃO**	**OSTEOPOROSE**	**ESTRESSE**	**Nº DE DENTES**
CBP	79	F	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO	15
DMC	46	F	SIM	NÃO	NÃO	SIM	SIM	SIM	22
AAO	67	M	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO	NÃO	6
LAT	59	M	SIM	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	SIM	30
MFS	49	F	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO	SIM	4
PN	68	M	SIM	SIM	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	24
JCC	40	M	SIM	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	31
MLSO	60	F	SIM	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	12
AMA	67	M	SIM	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	7
SAS	48	F	SIM	SIM	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	18
WN	67	M	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	17
MCATO	47	F	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	6
ECL	45	M	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO	NÃO	18
JM	66	M	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	20
FAC	50	M	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	26
JBC	53	M	SIM	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	22
AGB	73	F	SIM	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO	7
AF	53	M	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	10
TOTAL	40-79	F-7 e M-11	N-4 e S-14	N-8 e S-10	N-14 e S-4	N-6 e S-12	N-15 e S-3	N-13 e S-5	31-4
%	59,5	F-38,9 e M-61,1	N-22,2 e S-77,8	N-44,4 e S-55,6	N-77,8 e S-22,2	N-33,3 e S-66,7	N-83,33 e S-16,67	N-72,2 e S-27,8	17,5

Certificado do comitê de ética em pesquisa da faculdade de odontologia de piracicaba – CEP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Avaliação clínica e microbiológica da interrelação entre a doença periodontal e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares**", protocolo nº **036/2008**, dos pesquisadores **WAGNER LEAL SERRA E SILVA FILHO, ANTONIO WILSON SALLUM, EDUARDO LÚCIO NICOLELA JR, HUMBERTO MAGNO PASSOS e REGINALDO BRUNO GONÇALVES**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 28/05/2008.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**Clinical and microbiological evaluation of the relation between periodontal disease and the development of cardiovascular disease**", register number **036/2008**, of **WAGNER LEAL SERRA E SILVA FILHO, ANTONIO WILSON SALLUM, EDUARDO LÚCIO NICOLELA JR, HUMBERTO MAGNO PASSOS and REGINALDO BRUNO GONÇALVES**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 28/05/2008.

Prof. Pablo Agustin Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Jacks Jorge Júnior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.