UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

JANAINA SALOMON GHIZONI

**Identificação de bactérias periodontopatogênicas em placas
ateromatosas de carótidas humanas**

BAURU

2012

JANAINA SALOMON GHIZONI

**Identificação de bactérias periodontopatogênicas em placas ateromatosas
de carótidas humanas**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru
da Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências Odontológicas Aplicadas, na área
de concentração Patologia Bucal.

Orientador: Prof. Dr. Luís Antônio de Assis Taveira
Co-orientadora: Profª Drª Adriana Campos Passanezi
Sant'Ana

Versão corrigida

BAURU
2012

Ghizoni, Janaina Salomon

G345i Identificação de bactérias periodontopatogênicas em
placas ateromatosas de carótidas humanas / Janaina Salomon
Ghizoni. -- Bauru, 2012.
105 p.: il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Odontologia de
Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Luís Antônio de Assis Taveira
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Adriana Campos Passanezi
Sant'Ana

Nota: A versão original desta dissertação/tese encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP
UNISUL
Protocolo nº: 12.008.4.02.III

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedicatória,

Dedico meu trabalho, minha vida e meu mais puro sentimento à **Giovanna**, luz que faltava na minha vida, o maior presente que pude ter, ser tua mãe, hoje é ser plena.

Ao meu grande amor e amigo **Jefferson**, anos se passaram e a cada vitória estais presente sendo meu alicerce e concretizador dos meus maiores sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos Especiais,

A Deus, meu tudo!

“No futuro, certamente deste dia só restarão recordações vagas e distantes.

Mas, sei que a cada vitória que esta carreira me proporcionar, Vós estareis por trás dela, como estivestes em cada momento da minha vida”

Ao meu marido **Jefferson** e minha realização **Giovanna**,

“Que com apoio e carinho de vocês, sempre me ajudaram a substituir a angústia e o desânimo pela perseverança e motivação, este trabalho é de vocês!!!!

Aos meus **pais** e **irmão**, todo respeito e amor dedicados a mim foram o que me fizeram a pessoa que sou hoje. Muito obrigada!

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Luís Antônio de Assis Taveira**, pela orientação prestada no decorrer de todo os anos. Professor a quem dispenso grande admiração pela paciência e carisma... sentirei saudades de ouvir: - “Oi guria!”. Muito, obrigada professor!

À minha co-orientadora, **Profa. Dra. Adriana Passanezzi Sant’Ana**, pelo brilho nos olhos, pelo carinho, obrigada por ter-me dado o privilégio de seu convívio e aprendizado.

Ao co-orientador, **Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos**, a quem dedico todo meu respeito e gratidão. A você, toda admiração e respeito.

Ao colaborador essencial, **Thiago José Dionísio**, por todo esforço, por toda garra na fase laboratorial. Muito obrigada!

Agradecimentos,

Aos grandes professores-doutores da Disciplina de Patologia Bucal: Alberto Consolaro; Vanessa Soares Lara; Denise Tostes Oliveira; Luís Antônio de Assis Taveira, toda a minha admiração e respeito por vocês, carregarei-os em meu coração e na minha saudade lembrança.

Aos funcionários da Disciplina de Patologia Bucal: em especial Maria Cristina Carrara Felipe e Fátima Aparecida Silveira, muito obrigada!

A todos os amigos da pós-graduação da Patologia Bucal: o meu muito obrigada!

Aos professores-doutores da Disciplina de Periodontia da FOB-USP, Waldyr Janson, Adriana Campos P. Sant'Ana, Maria Lúcia R. Rezende, Sebastião Luis A. Gregghi e, em especial, ao Dr. Euloir Passanezi, pelo privilégio de tê-lo como espelho e exemplo de profissionalismo.

Aos funcionários da disciplina de Periodontia Marcos A. de Godoy, e em especial *Edilaine L. Rodrigues Torrecilha* e *Ivânia K. da Costa Arruda*, pela solicitude e amizade.

Meu agradecimento a Maristela Ferrari pelo excelente trabalho e carinho na fase final da minha tese, tua ajuda foi essencial.

À minha família de escolha, Maurício, Elaine e Marcelle, muito obrigada por vocês fazerem parte da minha vida.

Ao Prof. Dr. Naudy Brodbeck May pelo incentivo disponibilizado e compreensão pelas minhas ausências, muito obrigada.

Ao Dr. Reginaldo Boppré e toda equipe de Cirurgia Vascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição de Tubarão-SC, pela confiança e oportunidade depositadas, indispensáveis para a realização e concretização deste trabalho.

A todos os colegas da Unisul em especial Gustavo, José Cabral, Gláucia, Marilin, Marcelo, Sandra, Estela, Evandro pelo maravilhoso convívio, meu muito obrigada.

Aos alunos do curso de Odontologia da Unisul em especial os alunos da LIGA Ana Paula, Aline, José Fernando, Marco, Paula, Ricardo e Roger, muito obrigada pela oportunidade de tê-los como alunos.

Ao Prof. Dr. Heitor Marques Honório pelo privilégio de tê-lo como amigo e colaborador neste trabalho, muito obrigada.

Aos meus pacientes, imprescindíveis na concepção deste trabalho. Agradeço e deixo-lhes meu carinho a todos quem pude ter o prazer de conhecer. Que Deus os abençoe.

À Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, através do diretor Prof. Dr. José Carlos Pereira e à Comissão de Pós-Graduação.

Ao Governo do Estado de São Paulo que através da Faculdade de Odontologia de Bauru, fez com que fosse possível realizar meu grande sonho de tornar-me Doutora.

À minha família CROSB e ArtDental, sonho realizado e expresso com amizades inigualáveis, Francine e Ionara, muito obrigada por vocês dividirem o meu viver!

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“A vida é a arte de encontro, embora haja tanto desencontro pela vida. É preciso encontrar as coisas certas da vida para que ela tenha o sentido que se deseja. Assim, a escolha profissional também é a arte de um encontro. Porque uma vida só adquire vida quando a gente empresta nossa vida para o resto da vida”.

Vinícius de Moraes.

RESUMO

RESUMO

Estudos recentes sugeriram associação entre doença periodontal e doenças cardiovasculares e respiratórias. O objetivo deste estudo foi investigar a presença de bactérias periodontopatogênicas em placas ateromatosas humanas. Foram incluídos no estudo 24 pacientes de ambos os sexos, 40-60 anos de idade, internados na UTI do Hospital Nossa Senhora da Conceição em Tubarão-SC com indicação para endarterectomia. Após a coleta das placas ateromatosas, procedeu-se a identificação de sete diferentes espécies bacterianas periodontopatógenos por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). Para realização da análise estatística foi verificada a associação entre as duas variáveis qualitativas nominais (presença ou ausência de bactérias X tipo de bactérias) por meio do teste Qui-quadrado, com nível de significância de 5 %. Os resultados desse trabalho mostraram haver associação entre presença ou ausência de bactérias e dos diferentes tipos de bactérias nos ateromas analisados ($p = 0,001$). Dos ateromas avaliados 75% apresentaram *Porphyromonas gingivalis*, 58,3% *Treponema denticola*, 37,5% apresentaram *Fusobacterium nucleatum*, 33,3% *Prevotella intermedia*, 20,8% *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 0,4% de *Prevotella nigrescens*. Esses achados permitem concluir que bactérias periodontopatogênicas apresentam a capacidade de invadir a parede das artérias, podendo ter papel significativo no desenvolvimento ou ruptura das placas ateroscleróticas.

Palavras-chave: Doença periodontal. Doenças cardiovasculares. Inflamação. Ateroma.

ABSTRACT

ABSTRACT

Identification of periodontopathogens in human carotids atherosclerotic plaque

Recent studies suggested an association between periodontal disease and cardiovascular and respiratory diseases. The aim of this study was to investigate the presence of periodontopathogens in human atherosclerotic plaque. It were included in this study 24 non-smoking patients, both genders, 40-60 years, admitted at intensive unit care with indication of endarterectomy. After collection of carotid samples containing the lesions, the identification of seven different bacterial species was performed by real time polymerase chain reaction (RT-PCR). For statistical analysis, the association between two nominal qualitative variables (presence or absence of bactérias vs. bacterial specieis) was verified by Chi-squared test, with a 5% significance level. The results obtained showed an association between the presence or absence and bacterial species found in atheroma ($p = .0001$). Among the atheroma examined, 75% showed the presence of *Porphyromonas gingivalis*, 58.3% showed *Treponema denticola*, 37.5% showed *Fusobacteriumnucleatum*, 33.3% showed *Prevotella intermedia*, 20.8% *Agreggatibacter actinomycetencomitans* and 0.4% *Prevotella nigrescens*. These findings suggest that periodontopatoghens are capable of invading artery wall and could play a significant role in the development or rupture of atherosclerotic lesions.

Key words: Periodontal disease. Cardiovascular disease. Inflammation. Atheroma.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 - Incisão longitudinal aproximadamente 6 a 8 cm abaixo do lóbulo da orelha permitindo a abertura da fascia cervical média	68
Figura 2 - Campleamento das artérias com fitas cardíacas e vizualização do bulbo carotideo	69
Figura 3 - Incisão linear sobre o bulbo carotideo e visualização da placa ateromatosa	69
Figura 4 - Descolamento da placa ateromatosa	69
Figura 5 - Placa ateromatosa	70
Figura 6 - Placa ateromatosa proveniente de carótida humana	70

GRÁFICOS

Gráfico 1 - Percentuais dos diferentes tipos bacterianos presentes nos ateromas analisados ..	77
Gráfico 2 - Percentuais de ausência e presença para cada tipo bacteriano estudado	78

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes utilizados para realização do PCR.....	72
Tabela 2 - Sequência de primers utilizados para detecção das bactérias	72
Tabela 3 - Quantidade de carótidas com a determinada bactéria.....	78
Tabela 4 - Quantidade das diferentes bactérias por carótida examinada	78
Tabela 5 - Descrição das bactérias presentes por número de carótida(s)	79

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A.actinomycetemcomitans: Aggregatibacter actinomycetemcomitans

A.a.: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

AVE: acidente vascular encefálico

AVE-I: acidente vascular encefálico isquêmico

AVE-H: acidente vascular encefálico hemorrágico

CPITN: índice da necessidade de tratamento periodontal da comunidade

DCC: doença cardíaca coronariana

EI: endocardite infecciosa

FM: fumante

F.n.: *Fusobacterium nucleatum*

g: gramas

g/mL: grama por mililitro

Hcl: ácido clorídrico

HDL: lipoproteínas de alta densidade

HCMV: citomegalovírus humano

ID: idade

IG: índice gengival

IP: índice de placa

IDF: Infecções dentárias focais

IL-1 β : interleucina-1beta : prostaglandina

Kcl: cloreto de potássio

LPS: lipopolissacarídeo

LDL: lipoproteínas de baixa densidade

Mg₂Cl: cloreto de magnésio

MPM: metaloproteinases de matriz

mL: mililitro

mg: miligramas

mM: milimol

NIS: nível de inserção à sondagem

OR: “Odds ratio” (razão logística)

°C =	grau Celsius
pmol:	picomol
PA:	pressão arterial
PDENT:	perda dentária
<i>P.g.:</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P.i.:</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
PS:	profundidade de sondagem
PGE ₂ :	prostaglandina E ₂
<i>P.gingivalis:</i>	<i>Porphyromonas gingivails</i>
<i>P.n.:</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
PCR:	reação em cadeia da polimerase
pb:	pares de base (peso molecular)
r:	coeficiente de correlação
RR:	riscos relativos
s:	segundos
<i>T.f.:</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
TNFα :	fator de necrose tumoral-α
<i>T.d.:</i>	<i>Treponema denticola</i>
TIA:	ataque isquêmico transitório
U:	unidades
UTI:	unidade de terapia intensiva
V:	volts
μL:	microlitro

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1	INTRODUÇÃO	29
2.2	DOENÇA PERIODONTAL: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E MECANISMOS PATOGENICOS	31
2.3	MICROBIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL: EVIDÊNCIAS DA PARTICIPAÇÃO DAS PERIODONTOPATÓGENOS <i>AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETENCOMITANSE PORPHYROMONAS GINGIVALIS</i>	33
2.4	REAÇÃO DE POLIMERASE EM CADEIA (PCR)	37
2.5	PATOGENESE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E DOENÇAS CARDIOVASCULARES (ATEROSCLEROSE, AVE E INFARTO DO MIOCARDIO)	38
2.6	CORRELAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E DOENÇAS CARDIOVASCULARES (ATEROSCLEROSE, AVE E INFARTO DO MIOCARDIO)	47
2.7	CONTROLE DE PLACA DENTOMICROBIANA PROFISSIONAL E PESSOAL: ASPECTOS RELEVANTES RELATIVOS À PREVENÇÃO	57
3	PROPOSIÇÃO	61
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	65
4.1	SELEÇÃO DA AMOSTRA	67
4.2	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO DE ENDARTERECTOMIA.....	68
4.3	COLETA DAS PLACAS ATEROMATOSAS	70
4.4	EXTRAÇÃO DO DNA BACTERIANO DAS AMOSTRAS DAS PLACAS ATEROMATOSAS	71
4.5	QUANTIFICAÇÃO E QUALIFICAÇÃO DO DNA	71
4.6	REAÇÃO DA CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	71
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	73
5	RESULTADOS.....	75
6	DISCUSSÃO.....	81
7	CONCLUSÃO	87
	REFERÊNCIAS	91
	ANEXOS	103

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Estudos recentes têm sugerido associação entre doença periodontal e o desenvolvimento de doenças sistêmicas, tais como doenças cardiovasculares, respiratórias, diabetes mellitus além de nascimento de bebês prematuros e de baixo peso. (MEALEY; OCAMPO, 2000, RAGHAVENDRAN; MYLOTTE; SCANNAPIECO, 2007, PAQUETE; BRODALA; NICHOLS, 2007, MICHALOWICZ; DURAND, 2007). A periodontite é uma doença de natureza infecciosa e inflamatória crônica que resulta na destruição dos tecidos de suporte dos dentes e, possivelmente, na perda do órgão dentário (PAGE et al., 1997), sendo um dos fatores etiológicos a presença de várias espécies de microorganismos dentre as quais se destacam as bactérias do complexo vermelho, incluindo *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Treponema denticola* (T.d.), *Tanerella forsythia* (T.f.), além do *Agreggatibacter actinomycetencomitans* (A.a.). (SOCRANSKY et al., 1998).

Recentemente, foi sugerido que infecções de baixa a moderada intensidade, como a doença periodontal, poderiam influenciar o desenvolvimento de aterosclerose e, conseqüentemente, o desenvolvimento de lesões isquêmicas (DANESH; COLLINS; PETO, 1997, LINDSBERG; GRAU, 2003). Dentre os mecanismos etiopatogênicos que associam a doença periodontal a doenças cardiovasculares, o papel da bacteremia ou endotoxemia deve ser enfatizado, considerando que estimula a migração de células inflamatórias para o interior das paredes dos vasos sanguíneos, precedendo a formação das lesões ateroscleróticas. (LINDSBERG; GRAU, 2003). Outro mecanismo possível estaria relacionado à indução de processos imunológicos, levando à síntese de proteínas de fase aguda da inflamação pelo fígado, especialmente proteína C reativa (OFFENBACHER; BECK, 2005). Aumento nos níveis de proteína C reativa, até mesmo dentro dos valores de variação normal, tem sido considerado como precursores de doenças cardiovasculares. (RIDKER; GLYNN; HENNEKENS, 1998, DANESH et al., 1999).

Além disso, dentre as diversas espécies bacterianas existentes na cavidade bucal, a P.g. e o A.a. tem sido associados à formação do ateroma (DESVARIEUX et al., 2005, CAVRINI et al., 2005). O principal pré-requisito para a formação do ateroma parece estar correlacionado à exposição crônica às bactérias, inclusive aquelas relacionadas à doença periodontal (PUSSINEN et al., 2004). Perda de inserção mais severa, bolsas mais profundas e maior número de dentes perdidos têm sido frequentemente correlacionados com doenças cardiovasculares (SYRJÄNEN et al., 1989, GRAU et al., 2004).

Haraszthy et al. (2000) puderam verificar percentual significativo de bactérias periodontopatogênicas em placas ateromatosas removidas dos pacientes submetidos à endarterectomia. A evidência de que a infecção periodontal é um fator contribuinte é um tanto circunstancial, uma vez que a associação epidemiológica não é prova de uma ligação causal entre a bactéria e a doença vascular, contudo, a presença bacteriana no local adoentado é uma das exigências para determinar uma relação causal.

Kozarov et al. (2006), objetivando verificar se a presença de patógenos bucais contribuiu para o desenvolvimento de ateromas, concluíram que o DNA de agentes infecciosos orais, tais como *P.gingivalis* e *A.actinomycetemcomitans*, identificados por meio de PCR, são comumente encontradas em ateromas, contribuindo para o desenvolvimento da lesão inflamatória vascular. A definição da relação causa-efeito entre doença periodontal e AVE é difícil devido à multiplicidade de fatores de risco ao desenvolvimento do AVE. No entanto, algumas evidências têm sugerido como demonstradas anteriormente, que a doença periodontal poderia contribuir para a formação de placas de ateroma, as quais contribuiriam para o desenvolvimento de lesões cardíacas e cerebrais.

Pela falta de evidência científica da presença das bactérias periodontopatogênicas em placa ateromatosas o objetivo deste estudo foi identificar as bactérias periodontopatogênicas (bactérias *Aggregatibacter Actynomicetemcomitans* e do complexo vermelho) em placas ateromatosas obtidas de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Nossa Senhora da Conceição em Tubarão-SC. A hipótese do trabalho foi que haveria associação entre a presença ou ausência de bactérias periodontopatogênicas e tipos de bactérias nas placas ateromatosas em carótidas externas humanas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INTRODUÇÃO

A correlação entre doença periodontal e doenças cardiovasculares tem sido investigada em estudos recentes publicados na literatura (PAQUETE; BRODALA; NICHOLS, 2007). Aproximadamente 30% dos acidentes vasculares cerebrais que acometem pacientes jovens (<40 anos) não apresentam causas conhecidas (GHIZONI et al., 2012). O desenvolvimento de acidentes vasculares encefálicos tem sido associado a casos febris resultantes de infecções do trato respiratório (LINDSBERG; GRAU, 2003), com possível papel de alterações odontogênicas (MORRISON; ELLISON; TAYLOR, 1999), consideradas como um fator predisponente para condições cerebrais associadas à endocardite bacteriana (PUSSINEN et al., 2004).

Foi estabelecido que infecções crônicas podem contribuir para a formação dos ateromas por via direta, através da invasão bacteriana de células endoteliais com consequente agressão ao endotélio e agregação plaquetária, ou por via indireta, por meio da indução da resposta imune, síntese e secreção de moléculas de adesão intercelulares, anticorpos, citocinas e mediadores inflamatórios (PUCAR et al., 2007).

Um dos primeiros trabalhos avaliando a correlação entre infecção bucal de origem periodontal e infarto isquêmico foi publicado por Syrjänen et al. (1989), em estudo controlado envolvendo 40 pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico com idade inferior a 50 anos selecionados aleatoriamente. Posteriormente, vários outros trabalhos (PUSSINEN et al., 2004, MORRISON; ELLISON; TAYLOR, 1999, GRAU, et al., 2004) sugeriram associação entre doença periodontal ou perda dentária com acidente vascular encefálico. Foi observada maior incidência de AVE isquêmico em pacientes jovens com doença periodontal, especialmente entre aqueles que apresentavam menor número de dentes remanescentes, embora a ocorrência dessa condição não seja comum em faixas etárias mais jovens (SYRJÄNEN et al., 1989, SÖDER et al., 2005).

Os mecanismos patogênicos que poderiam explicar a influência da doença periodontal no desenvolvimento das doenças cardiovasculares e, mais especificamente, nos acidentes vasculares encefálicos não são ainda bem compreendidos. Como o risco de desenvolvimento de AVE foi maior para periodontite do que para edentulismo em estudo envolvendo 9962 adultos com idade entre 24 e 74 anos, Wu et al. (2000) sugeriram que a

presença dos patógenos periodontais seria a principal causa do desenvolvimento dos AVEs, especialmente do tipo isquêmico. Alguns estudos sugeriram a participação de bactérias periodontopatogênicas na etiologia de AVEs isquêmicos (OFFENBACHER; BECK, 2005, DESVARIEUX et al., 2005, PUSSINEN et al., 2004, KOZAROV et al., 2005) influenciando a formação de placas ateromatosas, e hemorrágicos (MORRISON; ELLISON; TAYLOR, 1999, FOURRIER et al., 1998, LINDSBERG; GRAU, 2003) por meio da capacidade de invasão de células endoteliais, dano ao endotélio vascular e, conseqüentemente, sua fragilização.

Posteriormente, outros estudos (HARASZTHY et al., 2000, CAVRINI et al., 2005, GRAU et al., 2004) também demonstraram a participação de bactérias periodontopatogênicas no desenvolvimento de acidente vasculares cerebrais. Desvarieux et al. (2003) demonstraram que 55% dos pacientes diagnosticados com AVE apresentavam placas ateromatosas. Quanto maior fosse o número de dentes perdidos, maior era a severidade da doença periodontal dos dentes remanescentes, aumentando também a incidência de placas ateromatosas. De acordo com Kozarov et al. (2005), as espécies bacterianas *Agreggatibacter actinomycetencomitans* e *Porphyromonas gingivalis* apresentam a capacidade de invadir células endoteliais e epiteliais e, assim, participar ativa e diretamente da formação das placas ateroscleróticas em indivíduos adultos jovens. Esses achados foram posteriormente confirmados por Desvarieux et al. (2005), os quais observaram, por meio de exame de ultra-sonografia, maior espessura das camadas íntimas e médias das carótidas de pacientes com maior prevalência e severidade de doença periodontal.

Outro estudo (PUSSINEN et al., 2004) indicou que a elevação dos níveis séricos de anticorpos contra os principais patógenos periodontais estava associada ao desenvolvimento de AVE em estudos de grande escala envolvendo pacientes de 45-64 anos.

Söder et al. (2005), devido à participação da doença periodontal nos estágios iniciais de formação das lesões ateroscleróticas em adultos jovens com doença periodontal de longa duração, sugeriram a condução de maiores estudos cujos objetivos fossem estabelecer uma base profilática para o desenvolvimento de aterosclerose.

2.2 DOENÇA PERIODONTAL: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E MECANISMOS PATOGÊNICOS

A periodontite é uma doença infecciosa persistente, com resposta inflamatória crônica dos tecidos de suporte que envolve o dente, incluindo ligamento periodontal, cemento e osso alveolar. Caracteriza-se por períodos de exacerbação separados por longos períodos de quiescência, com formação de bolsas periodontais patológicas concomitantemente à destruição das fibras do ligamento periodontal e do osso alveolar (SOCRANSKY et al., 1984). É causada por aproximadamente 500 espécies bacterianas de elevado potencial periodontopatogênico, incluem principalmente as anaeróbias gram-negativas (GOODSON et al., 1982, OFFENBACHER, 1996, PAGE, 1998, GRAU et al., 2004, PUSSINEN et al., 2004). Dentre estas, destacam-se a *P.gingivalis* e o *A. actinomycetemcomitans* que possuem grande capacidade de disseminação para outros locais do organismo. Ainda, encontram-se alguns vírus como *Herpes simplex*, Citomegalovírus e vírus *Epstein-Bar*, os quais podem estar envolvidos na etiologia da doença periodontal.

Inúmeros estudos epidemiológicos demonstram a alta prevalência de diferentes formas de doenças periodontais em jovens, adultos e idosos. Esta alta prevalência das doenças periodontais ocorre em diferentes populações e em todas as idades, variando na gravidade segundo a faixa etária, tipo de infecção, problemas sistêmicos e fatores de risco. As necessidades de tratamento e prevenção das doenças periodontais também têm sido amplamente pesquisadas no mundo. Parece não haver diferença de gravidade das doenças periodontais em países desenvolvidos com relação aos países em desenvolvimento (BUCKLEY; CROWLEY, 1984, LISTGARTEN; SCHIFTER; LASTER, 1985, AINAMO, 1988, DELANEY, 1995, PINTO, 1995, PAPAPANOU, 1996, BAEUM; PAPAPANOU, 1996, DIBART, 1997, CUNHA; CHAMBRONE, 1998, HUGOSON et al., 1998, NORDERYD; HUGOSON, 1998, PAPAPANOU; LINDHE, 1999).

Estudo epidemiológico realizado na zona urbana no Brasil em 1986 demonstrou que o contingente de pessoas com periodonto saudável foi de 28% para a faixa de 15-19 anos, 15% entre 35-39 anos e 4% entre 60-64 anos. No grupo de 35 a 44anos, 72% das pessoas eram sadias ou apresentavam sinais iniciais ou reversíveis da doença periodontal, 21,5% tinham bolsas moderadas e 6,5% tinham bolsas profundas. Este estudo constatou que 19% dos adultos entre 35 e 44 anos eram edêntulos, sendo 25% entre os mais pobres e 13,5% entre os mais ricos. Em todas as faixas etárias as condições de saúde periodontal na população de

baixa renda foram piores que as dos grupos economicamente mais favorecidos. (PINTO, 1997, OPPERMAN et al., 2005).

O diagnóstico da periodontite abrange uma ampla variação de classificação da doença, algumas das quais se encaixando perfeitamente em categorias específicas, enquanto outras apresentam dificuldades na definição. A doença periodontal pode influenciar na morbidade e mortalidade de doenças sistêmicas, considerando assim, a cavidade bucal como foco de disseminação infecciosa. (WU et al., 2000, ELTER et al., 2003, JOSHIPURA et al., 2003, GRAU et al., 2004, DESVARIEUX et al., 2005, SÖDER et al., 2005).

Os patógenos periodontais com interação entre os agentes infecciosos, resposta do hospedeiro e fatores ambientais determinam a gravidade, ou seja, taxa de extensão da progressão e susceptibilidade da doença periodontal. As bactérias são essenciais, mas insuficientes para causar doença; a suscetibilidade do hospedeiro e seus fatores etiológicos primários são determinantes. A periodontite é uma família de doenças relacionadas que diferem em etiologia, história natural, progressão e resposta à terapia, mas com vias comuns de destruição tecidual. As características ultraestruturais e histopatológicas da destruição tecidual, bem como a cicatrização e regeneração, são muito similares, se não idênticas para todas as formas de periodontite (SOCRANSKY et al., 1998). Esses mesmos mecanismos patológicos básicos são responsáveis pela destruição óssea e do tecido conjuntivo observada em todas as formas da doença. As citocinas pro-inflamatórias IL-1 e TNF α induzem a um aumento da produção de PGE₂ e metaloproteinases de matriz; e essas moléculas mediam a destruição da matriz extracelular da gengiva e do ligamento periodontal e a reabsorção do osso alveolar (PAGE, 1998, SLOTS; KAMMA, 2001, LOWE, 2004).

Sendo assim, a partir desta interação, destaca a capacidade de a doença periodontal predispor à doença vascular bem como a evolução e formação dos processos arterioscleróticos. A abundância de espécies gram-negativas envolvidas, os níveis prontamente identificáveis de citocinas pró-inflamatórias no líquido crevicular e os densos infiltrados de células imunes envolvidas, a associação com fibrinogênio periférico e contagem de leucócito, a extensão e cronicidade dessa doença seria a resposta plausível para tal evolução das doenças vasculares (KINANE; LOWE, 2000).

As citocinas TNF- α , IL-1 β e MPM, bem como PGE₂, alcançam altas concentrações nos tecidos durante a periodontite. O periodonto pode, portanto, servir como um reservatório de renovação para transbordar esses mediadores para circulação. A patogênese da doença periodontal e doenças sistêmicas tais como aterosclerose, doença

coronariana e AVE têm muitas características em comum (PAGE, 1998, SLOTS; KAMMA, 2001, LOWE, 2004).

2.3 MICROBIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL: EVIDÊNCIAS DA PARTICIPAÇÃO DAS PERIODONTOPATÓGENOS *AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETENCOMITANS* E *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

Embora existam diversas espécies bacterianas presentes na cavidade bucal, apenas algumas parecem estar consistentemente associadas aos diferentes quadros de doença periodontal. Segundo Socransky et al. (1998), para que uma determinada bactéria seja considerada como agente etiológico da doença periodontal, ela deve estar presente em níveis elevados em sítios ativos e inexistentes ou presentes em pequenas quantidades em sítios saudáveis ou inativos, a remoção das bactérias deve resultar em remissão dos sinais clínicos da doença, os pacientes infectados devem apresentar titulação elevada de anticorpos específicos localmente (saliva e fluido gengival) e sistemicamente (soro), podendo ainda induzir a resposta imune celular, a inoculação da bactéria em modelos animais deveria produzir o desenvolvimento de pelo menos algumas das características da doença e os fatores de virulência bacterianos devem estar correlacionados aos achados histopatológicos associados.

A identificação das espécies bacterianas especificamente associadas aos diferentes quadros de doença periodontal se torna especialmente desafiadora diante da grande quantidade de espécies bacterianas que habitam a microbiota bucal. Além disso, algumas espécies bacterianas associadas a doenças periodontais severas são de difícil coleta, isoladamente e cultivo, pois são anaeróbias estritas ou facultativas, vivendo em áreas de bolsa profunda, cujo acesso é mais dificultado. Existem ainda diferentes tipos de doença periodontal, que estão associadas a diferentes espécies bacterianas. Como as bactérias periodontopatogênicas devem estar presentes em número elevado nos sítios ativos, uma outra dificuldade para identificação das mesmas reside na necessidade de determinação do surto ativo da doença, onde há destruição tecidual e preponderância dos fatores de virulência bacterianos sobre os mecanismos de defesa do hospedeiro. Diante da quantidade de espécies bacterianas existentes na cavidade bucal e da capacidade de interação das mesmas no biofilme, bactérias oportunistas podem crescer em função de outras espécies que realmente representam um desafio à saúde ou pode existir a participação de mais de uma espécie

bacteriana na etiologia da doença periodontal e cujas cepas podem diferir entre si no potencial patogênico.

Assim sendo, de forma geral, os quadros de saúde periodontal estão associados ao predomínio de cocos e bacilos gram-positivos, enquanto que os quadros de gengivite estão associados a um ligeiro aumento na quantidade de cocos e bacilos gram-negativos e os quadros de periodontite estão associados ao predomínio de cocos e bacilos gram-negativos, anaeróbios estritos ou facultativos.

As espécies bacterianas predominantes nos quadros de saúde periodontal incluem espécies de *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. viscosus* e *A. naeslundii* e pequenas proporções de *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *Neisseria sp.* e *Veillonella sp.* (HAFFJAE et al., 1998). Esses microorganismos também estão presentes nos quadros de gengivite, porém com proporção aumentada dos cocos e bacilos gram-negativos (44%). Os quadros de periodontite apresentam associação mais forte com cocos e bacilos gram-negativos, anaeróbios estritos ou facultativos, de forma geral com predomínio das espécies *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola* e *A. actinomycetemcomitans*, sendo este associado principalmente às formas localizada e generalizada de periodontite agressiva (ZEE; SAMARANAYAKE; ATTSTRÖM, 1996).

Socransky et al. (1998) descobriram que as bactérias vivem em microcolônias ou complexos dentro do biofilme oral. Identificaram, assim, a existência de cinco complexos bacterianos distintos, nos quais as bactérias vivem em comunidades, favorecendo a colonização por bactérias mais patogênicas ou não. O complexo vermelho compreende as bactérias mais patogênicas, incluindo a *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia*, que vivem em associação. Embora o *A. actinomycetemcomitans* não tenha sido identificado neste complexo ou em quaisquer outro no estudo inicial, estudos posteriores sugeriram sua associação, devido ao potencial patogênico, ao complexo vermelho (PAGE, 1998). Essas bactérias encontram-se presentes em níveis mais elevados nas bolsas periodontais mais profundas de pacientes com periodontite do adulto, estando associadas à perda de inserção rápida e severa, presentes em amostras de placa subgengival e supragengival, células epiteliais e tecido conjuntivo de pacientes periodontalmente comprometidos e apresentam fatores de virulência que se associam aos achados clínicos e histopatológicos. Os níveis de *A.a.* e *P.g.* são mais elevados em sítios que apresentam vermelhidão intensa da margem gengival, supuração, sangramento à sondagem e placa supragengival visível a olho nu.

O *A.a.* é um cocobacilo gram-negativo não formador de esporos, sem motilidade, capnofílico e anaeróbio facultativo. Existem 3 cepas distintas de *A.a.* reconhecidas: a, b e c,

distinguíveis entre si pelo potencial patogênico. Entre os fatores de virulência associados ao *A.a.* destacam-se a capacidade de invasão tecidual, observando-se a presença de espécies de *A.a.* nas células epiteliais e na hidroxiapatita, a produção de enzimas como leucotoxinas, que destroem leucócitos polimorfonucleares, impedindo uma resposta imune efetiva, bacteriocinas, capazes de destruir outras espécies bacterianas, collagenase, levando à destruição de colágeno, de fatores imunossupressores e citotóxicos, além das endotoxinas capazes de levar à ativação do complemento pelas vias clássicas ou alternativas, induzir a ativação de linfócitos B e a diferenciação de macrófagos, estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias *in vitro* e promover reabsorção óssea *in vivo*. (HAFFJAE et al., 1998).

A *P. gingivalis* também é um cocobacilo gram-negativo, mas anaeróbio estrito ou obrigatório, não formador de esporos, sem motilidade e assacarolítico. São resistentes à fagocitose pelas células polimorfonucleares, devido aos mecanismos e habilidade diminuída em ativar a via alternativa do complemento e o aumento na hidrofília celular graças ao polissacarídeo capsular dessas bactérias. (O'BRIEN-SIMPSON et al., 2004).

Essas bactérias apresentam como principais fatores de virulência as endotoxinas bacterianas, além de fímbrias, fibrilas e antígenos presentes na superfície celular capazes de induzir resposta imune no hospedeiro. Produzem algumas enzimas específicas, como a collagenase, a protease e aglutininas, além de apresentarem a capacidade de invasão de células epiteliais. As espécies *Porphyromonas gingivalis* são adaptadas para sobreviver na bolsa periodontal e sua membrana externa de lipopolissacarídeo é capaz de desregular a E-seletina e a interleucina-8, dessa forma bloqueando a resposta inflamatória superficial do hospedeiro. (ROBERTS; DARVEAU, 2002). Os lipopolissacarídeos (LPS) e outros componentes microbianos em corrente sanguínea podem provocar uma resposta imunológica sistêmica. Anticorpos agem contra as bactérias podendo não reconhecê-las e ligarem-se às bactérias alvo, como também podem reagir com receptores dos tecidos do hospedeiro. (VAN WINKELHOFF; RAMS; SLOTS, 1996).

A bolsa periodontal profunda oferece às bactérias nutrientes através do fluxo sulcular aumentado e oxigenação do epitélio ulcerado da bolsa. À medida que se formam as bolsas periodontais, o epitélio é a única barreira entre os biofilmes microbianos e o tecido conjuntivo. As finas camadas do epitélio, frequentemente ulceradas permitem o acesso bacteriano ao tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (PAGE, 1998). Assim o *P.g.* pode bloquear os passos iniciais da resposta inflamatória que normalmente limita e controla a invasão microbiana, e ainda, permite o sobrecrecimento da própria e de outras bactérias gram-negativas nas bolsas periodontais (ROBERTS; DARVEAU, 2002).

Com o processo inflamatório e infeccioso, os tecidos estão altamente vascularizados, e a invasão tecidual e celular pelo *A.a.* e *P.g.* pode ser um meio pelo qual essas bactérias obtêm acesso à corrente sanguínea, estabelecendo infecções em lugares remotos (LAMONT; YILMAZ, 2002).

As propriedades invasivas dessas bactérias, principalmente de invadir células do epitélio bucal espalhando-se de célula para célula por meio de endocitose, parecem ser capazes de colonizar grande parte dos tecidos subepiteliais. A natureza anaeróbia facultativa do *A.a.* facilita a sobrevivência do microrganismo nos tecidos humanos (VAN WINKELHOFF; RAMS; SLOTS, 1996).

Van Winkelhoff e Slots (1999) revisaram a literatura sobre o papel do *A. actinomycetemcomitans* (*A.a.*) e da *P. gingivalis* (*P.g.*) nas infecções não-orais. Manifestações não-orais de infecções periodontais merecem atenção, descobertas recentes de supostas relações entre doença periodontal, doença coronariana, parto prematuro e infarto encefálico. Em pacientes imunocomprometidos, a cavidade bucal pode constituir um reservatório de sérios patógenos. Doença periodontal, abscessos dentários e EI aumentam a probabilidade de disseminação dos microorganismos bucais para sítios não-bucais.

Diferentes microbiotas periodontopatogênicas têm sido associadas com as doenças periodontais em várias populações. Dessa forma, Colombo et al. (2002) investigaram a microbiota subgengival de brasileiros com doença periodontal crônica não tratados, utilizando a técnica de hibridização DNA-DNA. Foram selecionados 25 pacientes com doença periodontal sem história de tratamento prévio e 14 pacientes saudáveis. Foram encontrados periodontopatógenos e outras espécies mais incomuns de bactérias em quantidades significativamente maiores nos pacientes com doença periodontal, indicando que a microbiota de brasileiros com periodontite crônica é similar para as espécies bacterianas predominante na microbiota de adultos da população mundial.

Cortelli et al. (2005) analisaram a prevalência de bactérias periodontopatogênicas em brasileiros com periodontite crônica e aguda. A prevalência de *P.gingivalis* foi similar àquelas da população da América do Sul. No entanto, sua prevalência e alta leucotoxicidade foi maior em brasileiros. Concluíram que maiores perdas de inserção ocorrem em sítios infectados com *A. actinomycetemcomitans* altamente leucotóxico.

2.4 REAÇÃO DE POLIMERASE EM CADEIA (PCR)

A reação de cadeia polimerase (PCR) é uma técnica biológica molecular para alta replicação de DNA, sintetizando milhares de cópias de diminutas amostras. Essa técnica permite a determinação das proporções de cada espécie bacteriana, em amostras de placa individuais, usando sondas e *primers* comuns a todas as sequências de RNAr 16S procarióticas, confirmando a presença de DNA bacteriano (MATAR et al., 1998, SHELBURNE et al., 2000, LOOMER, 2004).

Os testes PCR em tempo real permitem não apenas a detecção, mas também a quantificação, sendo caracterizados por uma ampla margem dinâmica de quantificação de 7–8 décadas logarítmicas, uma alta sensibilidade técnica e uma alta precisão. Outra vantagem desse método é que procedimentos pós-PCR não são exigidos, assim evitando a possibilidade de contaminação cruzada devido a produtos do PCR, vantagem esta de interesse especial para as aplicações diagnósticas (KLEIN, 2002).

O teste pode ainda detectar níveis muito baixos de bactérias para serem clinicamente relevantes, contudo, detectam e quantificam ácidos nucleicos de patógenos vivos e mortos. Portanto, é capaz de detectar um organismo alvo que corresponda a 0,2 a 0,002% da microbiota da placa (2.000 a 20.000 células bacterianas alvo uma amostra de placa contendo cerca de 10^7 a 10^8 células bacterianas cultiváveis re-suspensas em 1 ml de água), ou 0,02 a 0,0002% da microbiota salivar (2.000 a 20.000 células bacterianas alvo em uma amostra de saliva contendo 10^8 a 10^9 bactérias cultiváveis). O método PCR presente, com um limite de detecção de 2.000 a 20.000 células/mL, é adequado à determinação da presença bucal do *A. Actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *C. rectus*; os níveis médios desses organismos na saliva variam de 10^5 a 10^7 células/ml. (UMEDA et al., 1998).

O método PCR tempo real pode ser útil na elucidação do papel etiológico de microorganismos ainda não cultivados ou organismos extremamente sensíveis ao oxigênio, na doença periodontal (SAKAMOTO et al., 2001).

A quantidade relativa das espécies pode ser mais importante do que números absolutos na patogênese da periodontite (SLOTS, 1986).

2.5 PATOGÊNESE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E DOENÇAS CARDIOVASCULARES (ATEROSCLEROSE, AVE E INFARTO DO MIOCARDIO)

O acidente vascular encefálico (AVE) é uma lesão ocasionada por anormalidades no suprimento sanguíneo. Pode apresentar-se como um déficit neurológico focal de aparecimento rápido, podendo levar ao estado de coma ou mesmo até a morte. O AVE requer investigações em seu diagnóstico, sendo que diferem em etiologia, patogenia, área do cérebro afetada e alteração clínica resultante, implicando em diferentes formas de investigação, tratamento e prognóstico. O AVE é a terceira causa mais comum de morte nos países desenvolvidos. Nesses países, cerca de 25% dos pacientes morrem em um período de 6 meses (a maioria em um mês). Depois do AVE, cerca de 40% dos pacientes que sobrevivem tornam-se dependentes ou incapacitados por seis meses. Ao se desenvolver o AVE, o infarto encefálico ocorre após alguns minutos de isquemia, e as consequências dependem da duração e gravidade, variando de acordo com a área afetada do cérebro. Na isquemia, há redução do fluxo sanguíneo encefálico causado por lesão vascular, sistêmica ou local (FULLER; MANFORD, 2002).

A intensidade depende do grau de obstrução vascular, ocorrendo de forma rápida ou lenta, tendo consequências variadas. A isquemia persistente é provocada principalmente por placas de aterosclerose, trombos e êmbolos, que causam bloqueio total ou subtotal da irrigação por tempo prolongado e suas consequências variam de acordo com a intensidade. No caso das hemorragias, ocorre sangramento do espaço vascular para o extravascular ou para fora do organismo. Nos casos de hemorragia intracraniana, o sangramento pode ser letal aumentando a pressão intracraniana e comprometendo as funções vitais. Quando na intimidade da massa encefálica, o sangramento provoca destruição do tecido nervoso e compressão dos vasos adjacentes, causando isquemia. Doenças circulatórias do sistema nervoso central representam a maior causa de admissão hospitalar, sendo responsável por 50% dos distúrbios neurológicos encontrados em um hospital geral. (SACCO, HAUSER; MOHR, 1991, LOESCHE et al., 1998).

A base patológica do infarto encefálico e doenças cardíacas são, em muitos aspectos, similares. Os fatores de risco incluem hipertensão, fumo, diabetes, hiperlipidemia, AIDS, drogas, alcoolismo, arteriosclerose de artérias cerebrais. A hemorragia encefálica ocorre usualmente devido à hipertensão, mas também por doenças hematológicas e perda de sangue, terapia anticoagulante, doenças do fígado e tumores cerebrais. A integridade do tecido

nervoso pode ser afetada por distúrbios circulatórios ou de origem infecciosa (HART; MILLER, 1983, BRASILEIRO FILHO, 2000).

Herzberg et al. (1992), relataram que *Streptococcus sanguis* e *P. gingivalis* possuem moléculas similares ao colágeno em sua superfície. Estas proteínas associadas à agregação plaquetária podem ativar plaquetas de uma forma independente do complemento. Por outro lado, LPS e outros produtos de patógenos periodontais Gram-negativos poderiam disparar uma cascata de citocinas inflamatórias incluindo a expressão endotelial de IL-1, a qual estimula eventos vasculares e a coagulação associada com aterosclerose.

De acordo com Genco e Zambon (1998) existem vários mecanismos que podem correlacionar a doença coronariana com a doença periodontal. A primeira é a hipótese de trombo bacteriano, a agregação de plaquetária pode ser causada por colágeno e trombina, bem como por dois microrganismos encontrados na cavidade bucal, o *Streptococcus sanguis* (S.s.) e o *Porphyromonas gingivalis* (P.g.). Os autores recentemente fizeram um estudo sobre a relação entre a doença cardiovascular, doença periodontal e mediadores de células inflamatórias, incluindo a proteína C-reativa. Para isso foram reunidos grupos de adultos que não tinham doença periodontal nem doença cardiovascular, tinham uma dessas doenças ou ambas. Nos pacientes com nenhuma das doenças, o nível médio de proteína C-reativa era de 1,14g/ml, enquanto que naqueles que tinham tanto doença cardiovascular quanto periodontal era de 8,7g/ml, uma diferença estatística significativamente alta. Depois foi demonstrado que o tratamento da doença periodontal causava, em três meses, uma redução de 65% no nível de proteína C-reativa, sendo que esse nível ficou reduzido por seis meses. Isso sugeriu que a doença periodontal induz a o aumento da proteína C-reativa e possivelmente outros mediadores inflamatórios, os quais são conhecidos por serem fatores de risco independentes para as cardiopatias.

Papapanou (1996), Papapanou e Lindhe (1999), relataram que pacientes portadores de diabetes têm uma probabilidade três vezes maior de sofrer perda de tecido periodontal de suporte. Nos pacientes com diabetes de longa duração, início precoce e controle metabólico inadequado, há um risco elevado para a periodontite destrutiva. Reciprocamente, há evidências de que doenças periodontais inflamatórias são fatores de risco para doenças sistêmicas como diabetes e doenças cardiovasculares, e crianças com baixo peso ao nascer se geradas por mães com doença periodontal grave. Relataram a possibilidade de que as doenças periodontais e isquêmicas compartilhem algum caminho etiológico comum. Também que a gravidade das infecções odontológicas tem correlação com a extensão da aterosclerose coronariana; que indivíduos que apresentam infecções odontológicas graves possuem altos

níveis do fator antígeno de von Willebrand, leucócitos e fibrinogênio. Afirmam que descrever a prevalência e a incidência da doença periodontal traz informações valiosas para planejamentos de saúde bucal, mas que a tarefa principal é identificar fatores de risco para o desenvolvimento da doença, pois apesar de vários fatores já terem sido estabelecidos e ampla variedade de indicadores reconhecidos, o impacto das intervenções ainda está para ser documentado em estudos prospectivos.

Kinane e Radvar (1997), Ross (1999), relataram que as periodontites e a aterosclerose têm etiologia complexa, predisposição genética e de gênero, exibindo muitos fatores de risco, sendo o mais importante o tabagismo. As doenças coronarianas também apresentam muitos mecanismos patogênicos comuns. Infecções e condições inflamatórias crônicas, como as periodontites, podem influenciar o processo de formação e evolução das alterações de origem isquêmicas.

Haraszthy et al. (2000) utilizaram técnicas biomoleculares para examinar ateromas obtidos de pacientes durante endarterectomia da carótida, quanto à presença de ácidos nucléicos específicos da *C. pneumoniae*, citomegalovirus humano (HCMV) e 4 espécies bacterianas de patógenos periodontais. Cinquenta pacientes com idade entre 56 e 82 anos (média 69 anos) com estenose de carótida, requerendo endarterectomia, participaram do estudo (KRISTENSEN et al., 1997, NENCINI et al., 1998). Todos os espécimes obtidos a partir dos procedimentos de endarterectomia demonstravam evidências significativas de aterosclerose severa. Muitos dos espécimes tinham núcleos calcificados com depósitos circunferências de gordura. Oitenta por cento (80%) dos espécimes foram positivos nos ensaios PCR para a presença destas bactérias. Vinte e seis (26%) dos ateromas e 36% das amostras positivas para rDNA 16S foram positivas para *P. gingivalis*. Dezoito por cento (18%) dos ateromas e 25% das amostras positivas para rDNA 16S foram positivas para o *A. Actinomycetemcomitans*. Quatorze por cento (14%) dos ateromas e 19% das amostras positivas para rDNA 16S foram positivas para a *P. intermédia*. A maioria (59%) das amostras positivas para rDNA 16S, positivas para as espécies-alvo, demonstraram 2 ou mais espécies. Três amostras reagiram com as 4 espécies alvo. O *B. forsythus* foi encontrado com a única espécie alvo em 4 amostras, o *A. Actinomycetemcomitans*, em 3 amostras e a *P. gingivalis*, em 2 amostras. A *P. intermedia* foi encontrada apenas em combinação com outras espécies alvo. Esses achados sugeriram que, assim como em outras infecções, as bactérias periodontopatogênicas exercem papel fundamental no desenvolvimento e progressão da aterosclerose, contribuindo para o desenvolvimento de doença vascular coronariana e outras condições clínicas.

Para Ladeia e Barboza (2002) a periodontite aumentaria a susceptibilidade para as doenças sistêmicas, envolvendo mecanismos complexos de ativação de mediadores químicos a partir do periodonto. Destaca-se o tabagismo, estresse e pobre controle de higiene bucal, sendo fatores controláveis, e outras, incluindo os fatores hereditários, idade e doenças sistêmicas relacionadas, bacteremias, diabetes, alteração na gravidez e alterações cardiovasculares como não controláveis.

Para Libby (2002) a proteína C-reativa é uma proteína cujos níveis estão elevados em quadros infecciosos, incluindo a doença periodontal e pode interferir nas doenças cardiovasculares facilitando a formação de trombos. Além disto, chama a atenção para a utilização dos exames de níveis desta proteína em conjunto com exames dos níveis de colesterol para determinar o risco de infartos e acidentes vasculares cerebrais, sendo, portanto a proteína C-reativa, um forte marcador de risco para doenças vasculares.

O desenvolvimento de lesões vasculares ateroscleróticas inclui uma resposta inflamatória imunológica mediada. As migrações de células inflamatórias, células mononucleares, mastócitos e linfócitos no interior da parede vascular hoje tida como um fundamento da placa aterosclerótica humana em vasculatura encefálica e outras. Esse processo é intensificado pela deposição progressiva de lipídios modificados nas camadas subendoteliais. Quando o LDL é aprisionado em uma artéria, ele se torna oxidado e é fagocitado por macrófagos, os quais levam à formação de peróxidos lipídios e ao acúmulo de ésteres colesterol e de células vacuolares. O LDL oxidado estimula os efeitos quimiotáticos e pode aumentar a expressão do fator estimulante de colônia de macrófago. O LDL oxidado pode também estimular a expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais humanas e promover a transmigração de monócitos. Além disso, aumenta a resposta inflamatória por meio do estímulo de quimiocinas e recrutamento de novos monócitos para o interior da lesão ateromatosa. À medida que a lesão aterosclerótica cresce, leva à formação do chamado capuz fibroso encapsulando o núcleo da placa carregado de lipídios (LINDSBERG; GRAU, 2003).

A aterosclerose é hoje encarada como uma condição vascular inflamatória crônica, e acredita-se que doenças infecciosas contribuam para sua patofisiologia. Mecanismos imunológicos são estimulados precocemente e dão início ao desenvolvimento de infiltrados de células inflamatórias para o interior das paredes das artérias humanas. A origem das lesões ateroscleróticas precoces é precedida por deposição de células inflamatórias (macrófagos, linfócitos T) na camada subendotelial das principais artérias cerebrais, tais como a bifurcação da artéria carótida, bem como em espaços perivasculares de pequenos vasos cerebrais (LINDSBERG; GRAU, 2003). Aterosclerose é, assim sendo, um processo mórbido

progressivo que envolve artérias musculares de médio a grande calibre e grandes artérias elásticas, o que pode acarretar cardiopatias, causando enfartos cerebrais e ou do miocárdio.

A periodontite é um fator discreto da resposta inflamatória de fase aguda, ou seja, pode disparar uma resposta inflamatória sistêmica. Contudo, a evidência de que a infecção periodontal é um fator contribuinte para o desenvolvimento das lesões arteroscleróticas pode ser circunstancial, uma vez que a associação epidemiológica não é prova de uma ligação causal entre patógenos e doenças cardiovasculares (DESVARIEUX et al., 2005, SÖDER et al., 2005, PROTÁZIO et al., 2003).

A evidência de presença bacteriana no local adoentado é uma das exigências para determinar uma relação causal. A *P.g.* e *A.a.* invadem células epiteliais humanas, como por exemplo a aterosclerose, desenvolvida a partir de endotoxemias, anticorpos, agentes infecciosos, anticorpos tipo reação cruzada entre outros (PROTÁZIO et al., 2003). Essas espécies bacterianas podem entrar na corrente sanguínea acarretando uma propriedade aterogênica que pode ser explicada pela composição de lipopolissacarídeo (endotoxinas) das mesmas. Os macrófagos são ativados e induzidos a conversão em células vacuolares (PUSSINEN et al., 2004, KOZAROV et al., 2006).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, *Streptococcus sanguis* e *Porphyromonas gingivalis* possuem capacidade de agregar plaquetas e se disseminar através da corrente sanguínea, podem contribuir para a formação de trombos, para a ocorrência da aterosclerose, para o aumento do risco de isquemia, para eventos tromboembólicos agudos e infarto do miocárdio (HERZBERG; MEYER, 1998).

Em estudos relatados, Cherian et al. (2003), Libby (2002) e Buja (2003), constataram a presença de agentes infecciosos na placa ateromatosa. A hipótese que relaciona infecção e aterosclerose de maneira causal foi postulada nos anos 70, associando-a aos distúrbios imunoinflamatórios secundários.

Acredita-se que o pré-requisito seja a exposição sistêmica de longo-prazo aos patógenos. Na periodontite, inflamação gengival acompanhada por microulceração do epitélio da bolsa periodontal e o aumento do espaço subgengival para depósitos bacterianos fornecem acesso das bactérias e seus componentes à circulação sanguínea. A infecção local nas bolsas periodontais dispara uma resposta inflamatória sistêmica liberando mediadores inflamatórios, como por exemplo proteína C-reativa, cuja elevação tem sido diretamente associada com a aterogênese. Além disso, a periodontite é acompanhada por perfis lipídicos proaterogênicos (PUSSINEN et al., 2004).

Respostas inflamatórias e pró-coagulantes à infecção estão interligadas. Agentes infecciosos e citocinas inflamatórias como o fator de necrose tecidual- α (TNF- α) e interleucina-1 ativam a cascata da coagulação, estimulando assim o fator tecidual de monócitos e endotélio. O fator tecidual leva à formação de trombina, capaz de estimular vias inflamatórias múltiplas e de fibrina (PROTÁZIO et al., 2003).

A ligação de trombina e trombomodulina converte a proteína C em proteína C ativada, devido à resposta sistêmica, é alterada pela resposta inflamatória. As lesões endoteliais resultam em níveis menores de trombomodulina. O resultado final da resposta à infecção pode ser resultado da lesão endovascular difusa, trombose microvascular, isquemia de órgãos (PROTÁZIO et al., 2003).

A infecção exerce efeito antitrombótico pela inativação dos fatores Va e VIIIa, limitando a geração de trombina. Resulta assim na diminuição dos níveis de trombina, das respostas inflamatórias, do pró-coagulante e do antifibrinolítico induzidos pela trombina (PROTÁZIO et al., 2003).

A proteína C ativada exerce efeito antiinflamatório pela inibição da produção de citocinas inflamatórias (TNF- α , interleucina-1 e interleucina-6) por monócitos, limitando a migração de monócitos e neutrófilos para o endotélio lesado pela ligação a selectinas (PROTÁZIO et al., 2003).

Sua presença (proteína C reativa) no sangue indica que há uma inflamação em alguma parte do corpo, e níveis muito altos têm indicado aumento no risco de infarto ou derrame. A Proteína C-reativa é uma proteína cujos níveis estão elevados em quadros infecciosos, incluindo a doença periodontal, e parece interferir nas doenças cardiovasculares facilitando a formação de trombos. Além disso, chama a atenção para a utilização pelos médicos dos exames dos níveis dessa proteína em conjunto com exames dos níveis de colesterol para determinar o risco de infartos e acidentes vasculares cerebrais, sendo, portanto, a proteína C-reativa um forte marcador de risco para doenças cardiovasculares (LIBBY, 2002).

O desafio sistêmico com bactérias gram-negativas ou LPS induz em a grandes respostas vasculares, incluindo o infiltrado de células inflamatórias nas paredes dos vasos, proliferação de músculo liso vascular, degeneração vascular gordurosa e coagulação intravascular. O LPS estimula a expressão das moléculas de adesão das células endoteliais e a secreção de IL-1, TNF- α e tromboxano, os quais resultam em agregação e adesão plaquetária, formação de células vacuolares rodeadas por lipídeos e depósitos de colesterol e ésteres de colesterol, aortas doentes manifestam grande quantidade de monócitos.

A expressão de moléculas de adesão resulta em aderência de monócitos e sua incorporação no interior das placas, onde se tornam carregados de colesterol. O LDL ativa monócitos a secretarem IL-1 e TNF- α , e o HDL suprime esses monócitos. Muitos investigadores têm concluído que infecções de origem desconhecida possam contribuir para aterogênese e doença cardiovasculares, podendo as infecções periodontais ser responsáveis por isso (PAGE, 1998).

O papel dos processos inflamatórios na aterosclerose, as infecções, além de terem sua ação localmente nos vasos, podem atuar a distância. Quando o sistema imunológico combate uma infecção, mediadores inflamatórios podem cair na corrente sanguínea e ser levados para lugares distantes. Essas substâncias são capazes de estimular os glóbulos brancos nas placas ateromatosas, levando assim ao crescimento ou ao rompimento das placas. Apenas em 15% dos casos de infarto do miocárdio, ou AVE, o crescimento da placa é responsável por si só pela interrupção do fluxo sanguíneo. No restante dos casos, os infartos ocorrem após o rompimento das placas, com a abertura da sua tampa fibrosa, levando à formação de um coágulo (LIBBY, 2002).

Zaremba et al. (2007) avaliaram a incidência de selecionados bactérias anaeróbicas na placa aterosclerótica e subgengival em pacientes tratados cirurgicamente por causa da obliteração coronariana. O estudo foi realizado em 20 indivíduos com periodontite crônica. Placa subgengival foi coletada de bolsas periodontais > 5 mm. O teste de DNA foi usado para identificar oito agentes patogênicos responsáveis pela destruição do tecido periodontal. O material de placas ateroscleróticas foi coletado dos mesmos pacientes durante a cirurgia e os testes de DNA foi realizado pelo mesmo método. Em 13 dos 20 pacientes, a frequência dos patógenos mais encontrados em periodontite crônica severa também foram encontrados em coronária. Em 10 casos, as espécies de bactérias foram encontradas em placa aterosclerótica. Os mais frequentemente identificados foram *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*. Em pacientes com a forma grave de periodontite crônica, parece que a perda de inserção clínica não está associada com permeabilidade bacteriana em vasos coronarianos. O que é importante é a presença de um processo inflamatório ativo expresso por um índice de sangramento significativamente mais elevado nos pacientes nos quais as espécies examinadas bacterianas foram encontrados em placa aterosclerótica.

Aimetti, Romano e Nessi (2007) avaliaram a presença de cinco periodontopatógenos (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* [ex-*Tannerella forsythensis*]) em bolsas periodontais e em ateromas carotídeos dos mesmos pacientes. Trinta e três pacientes com

periodontite crônica avançada prevista para endarterectomia foram incluídos no estudo. O DNA foi extraído de amostras de placa subgengival e ateromas carotídeos. Todas as amostras de placa subgengival foram positivas para o microorganismo alvo pelo menos um. A prevalência de *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *P. intermedia*, e *A. actinomycetemcomitans* de 69,7%, 63,6%, 54,5%, 45,4% e 33,3%, respectivamente. DNA bacteriano foi detectada em 31 de 33 espécimes endarterectomia. No entanto, nenhuma das amostras testes positivos para DNA de patógenos periodontais. Os autores concluíram que a presença de bactérias periodontais em ateromatosa placas não foi confirmada por esta investigação; portanto, nenhuma correlação pode ser estabelecida entre a periodontite e bactérias e microorganismos envolvidos na lesões ateroscleróticas.

Cairo et al. (2004) objetivou: (i) verificar a presença de bactérias periodontais *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de DNA *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* (anteriormente *Bacteroides forsythus*) na carótida placas de ateroma e (ii) para avaliar a presença concomitante do mesmo DNA de bactérias periodontais, se houver, em bolsas periodontais e na carótida ateroma no mesmo paciente. Um total de 52 pacientes agendados para endarectomia da carótida foram incluídos neste estudo. O grupo de teste consistia de 26 pacientes dentados; o controle grupo incluía 26 pacientes desdentados. Um exame periodontal completo, incluindo amostra da placa subgengival, foi realizada na população teste. Exames orais e de raios-X foram realizadas no grupo de controle. Placas de ateroma foram colhidas durante o procedimento cirúrgico para cada paciente dentado e desdentado e, em seguida, enviado para o laboratório microbiológico. Amostras de placa subgengival e amostras carótidas foram examinados utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR), por meio de iniciadores específicos para as bactérias periodontais. Das 52 amostras endarterectomia, 12 (sete pacientes dentados, cinco desdentados) foram excluídos como negativo para a amplificação de DNA. Amostras de placa de 19 pacientes do grupo teste apresentaram *T.forsythensis* (79%), *F. nucleatum* (63%), *P. intermedia* (53%), *P. gingivalis* (37%) e *Aggregatibacter A.* (5%). Nenhum DNA de bactérias periodontais foram detectadas por PCR em qualquer uma das carótidas em cada grupo de paciente. A presença de DNA de bactérias periodontal nas placas ateromatosas não pôde ser confirmada por este estudo e, assim, nenhuma correlação pode ser estabelecida entre as espécies de bactérias associadas com a doença periodontal e as placas de ateroma.

O objetivo do estudo de Padilla et al. (2006) foi isolar e identificar bactérias periodontais de bolsas periodontais de diferentes pacientes e compará-los com microrganismos detectados nas placas ateromatosas obtido a partir do mesmo paciente. Foram

obtidos dados de 12 pacientes periodontite e placas ateromatosas. Estas amostras foram cultivadas em meios de cultura adequados bacteriológicas e incubadas em um sistema anaeróbio. Bactérias periodontais foram identificadas utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR). Dos 12 pacientes estudados, nove apresentaram diferentes espécies bacterianas periodontais. Em dois, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* estava presente nas bolsas periodontais e nas placas de ateromas. A presença de *A. actinomycetemcomitans* em placas de ateroma e bolsas periodontais dos mesmos pacientes poderiam indicar um papel para bactérias patogênicas periodontais no processo da doença de aterosclerose.

Ford et al. (2006) examinaram a natureza do infiltrado inflamatório em 31 espécimes de endarterectomia carotídea. Além disso, os anticorpos monoclonais foram usados para detectar a presença de seis bactérias, incluindo aqueles implicados na doença periodontal. Bactérias foram detectadas dentro de células intimais. *Chlamydia pneumoniae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, e *Aggregatibacter* foram encontrados em 21%, 52%, 34%, 34%, 41% e 17% das artérias, respectivamente. Os autores concluíram que os resultados dão evidência de uma resposta imune específica associada aterosclerose. Se as bactérias iniciam a inflamação observada em lesões ateroscleróticas não é clara, no entanto, o presente estudo mostra que a manutenção da inflamação pode ser mantida pela presença de bactérias periodontopatogênicas.

Romano, Barbui e Aimetti (2007) avaliaram a presença concomitante de 5 patógenos periodontais (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, e *Tannerella forsythia*) em bolsas periodontais e em ateromas carotídeos removidos dos mesmos indivíduos. Vinte e um pacientes com doença periodontal crônica prevista para endarterectomia foram incluídos no estudo. Amostras de placa subgingival e ateromas carotídeos foram examinados usando a reação em cadeia polimerase e técnicas de hibridização reversa por meio de sondas específicas para bactérias periodontais. Todas as amostras de placa subgingival foram positivas para, pelo menos, um micro-organismo alvo. A prevalência de *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* foi 72,22%, 61,11%, 55,56%, 50% e 33,33%, respectivamente. Não foi detectado nenhum DNA bacteriano em qualquer ateroma. Com isso concluíram que a presença de bactérias periodontais em placas de ateroma não foi confirmada por esta investigação e, assim, nenhuma correlação entre bactérias periodontais e micro-organismos envolvidos nos ateromas poderiam ser traçados.

2.6 CORRELAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E DOENÇAS CARDIOVASCULARES (ATEROSCLEROSE, AVE E INFARTO DO MIOCARDIO)

A associação entre a doença periodontal e doenças sistêmicas tem sido discutida na literatura, dentro do paradigma da Medicina Periodontal Offenbacher (1996) a partir da década de 70, quando Hendlere Quinn (1978) descreveu um caso de mediastinite necrosante, tendo como causa principal uma infecção bucal decorrente da periodontite.

Posteriormente, Ingham et al. (1978) descreveu a ocorrência de abscesso encefálico secundário à septicemia. Alguns achados bucais significantes de lesão periapical e infecção periodontal foram descritos, onde culturas de sangue indicaram presença de *Streptococcus*, sugerindo que a propagação das bactérias deu-se por via hematogênica, causando o abscesso encefálico.

Um dos primeiros trabalhos avaliando a correlação entre infecção bucal de origem periodontal e infarto isquêmico encefálico foi publicado por Syrjänen et al. (1989). Em estudo controlado, envolvendo 40 pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico, com idade inferior a 50 anos, selecionados aleatoriamente, encontrou alta prevalência de infecção bucal em indivíduos do sexo masculino com AVE, relativamente ao grupo controle.

Andrews e Farnham (1990) após revisão de relatos de literatura correlacionando casos de abscessos cerebrais a infecções de origem odontológica descreveu caso clínico de paciente do gênero masculino que apresentou abscesso encefálico após a extração dentária.

Grau et al. (1997) encontraram associações significativas entre derrame isquêmico, periodontite e lesões periapicais dissociando o Índice Dentário Total proposto por Matilla et al. (1989) pela exclusão dos componentes relacionados à doença cárie, entretanto sem controlar outros fatores de risco como hábito de fumar, número de cigarros consumidos, obesidade e atividade física.

Loesche (1998) em estudo transversal envolvendo 401 veteranos com idade média de 60 anos demonstrou que várias condições dentárias/bucais poderiam estar significativamente correlacionadas com o diagnóstico de acidente vascular encefálico (AVE) quando incluída em modelo experimental para análise estatística bivariada, com a presença ou ausência de múltiplos fatores de risco para acidente vascular encefálico, não ocorrendo diferenças significantes em relação à prevalência de cárie e doença periodontal em pacientes com e sem AVE. O fluxo de fluido salivar estava inversamente correlacionado com o AVE em modelos multivariados. Condições dentárias também foram significativamente correlacionadas com o

AVE. O índice de placa e os hábitos de higiene bucal, correlacionados à escovação, uso de fio dental e frequência estariam significativamente correlacionados com AVE. Muitos desses sujeitos necessitavam de ajuda para a higienização dentária por dificuldades na destreza manual decorrentes do AVE.

Morrison, Ellison e Taylor (1999) verificaram longitudinalmente a relação entre saúde bucal, e o risco de doenças coronarianas e cerebrovascular fatais em homens e mulheres de pacientes participantes de levantamento realizado entre 1970 e 1972. Foram incluídas no estudo 12.795 pessoas, examinadas clinicamente quanto a condições sistêmicas e odontológicas, fisicamente (exame antropométrico, avaliação da dieta) e em exames clínicos laboratoriais do sangue e urina. Aproximadamente 40% apresentaram gengivite leve ou severa, enquanto um quarto era edêntulo. Comparado aos indivíduos saudáveis periodontalmente, pacientes com gengivite leve (RR 1,54) ou severa (RR 2,15) apresentaram risco aumentado de DCC (doença cardíaca coronariana) fatal, associado ainda ao tabagismo, hipertensão arterial, nível sérico de colesterol total elevado e diabetes mellitus. O risco relativo para periodontite foi mais baixo (RR 1,37), enquanto que a perda dentária representou um risco significativamente aumentado (RR 1,90).

Wu et al. (2000) realizaram um estudo comparativo para associação entre a doença periodontal inicial, incidência subsequente e a mortalidade por acidente vascular encefálico. Foram estudados, 9.962 adultos com idade entre 24 a 74 anos. A análise indicou que o risco de AVE tendeu a ser maior para periodontite do que para edentulismo, o que suporta a hipótese de patógenos periodontais como possível causa para a associação. Concluíram, assim, que periodontite está significativamente associada com risco do desenvolvimento do AVE, em particular, AVE-I.

Em 2003, Desvarieux et al., investigaram se havia relação entre as medidas periodontais clínicas convencionais (profundidade de sondagem e nível de inserção) e a perda dentária em relação à presença de placas ateromatosas na artéria carótida. Para tanto, realizaram estudo prospectivo estratificado em 711 pacientes hispânicos, negros e brancos não hispânicos residentes em região pré-delimitada de Manhattan há pelo menos 3 meses, com idade mínima de 55 anos, sem história de AVE, infarto do miocárdio ou quaisquer outras condições sistêmicas no início do estudo. Foram avaliados o número de dentes presentes, frequência de escovação e uso do fio dental, coleta do fluido gengival na face mesial do último dente em cada quadrante, coleta de placa nos sítios mésio-linguais dos dois últimos molares superiores e mésio-vestibulares dos 2 últimos molares inferiores em cada quadrante, índice de placa dicotômico, profundidade de sondagem e recessão, exame de cárie e

mobilidade dentária. A severidade da doença periodontal atual foi avaliada por meio de profundidade de sondagem ($\geq 3.5\text{mm}$ = doente), enquanto que a severidade de doença periodontal acumulada foi medida por meio da perda de inserção ($\geq 4\text{mm}$ = doente). A extensão da doença foi medida por meio da porcentagem de sítios que se enquadravam nos critérios acima. A perda dentária foi avaliada em quatro escalas: de 0-9, 10-19, 20-31 dentes perdidos ou desdentados totais. Foram investigadas ainda a presença de placas nas artérias carótidas e a espessura das mesmas em sistema de ultra-som de alta resolução nos planos longitudinal (vistas anterior, lateral e posterior) e transversal. As medidas máximas da espessura da artéria carótida foram realizadas na maior proeminência da placa de qualquer um dos 3 segmentos avaliados. A ausência de placa ateromatosa foi anotada como zero. Na entrevista, foram investigadas a história médica, o exame neurológico e os exames laboratoriais e de sangue para identificação dos fatores de risco (hipertensão, diabetes, ataque isquêmico transitório, fumo, alcoolismo e condições cardíacas prévias), frequência da realização de atividades físicas e condições sociais (estado civil, número de amigos íntimos, contato social e número de membros na casa). A análise dos dados mostrou que 55% dos pacientes apresentavam placas ateromatosas, sendo 54% na artéria interna e 6% na artéria comum. A prevalência de placas ateromatosas foi maior em homens do que em mulheres, em brancos do que em melanodermas ou hispânicos. Quanto maior o número de dentes perdidos, maior era a severidade da doença periodontal dos dentes remanescentes, aumentando também a incidência de placas ateromatosas.

Zétola et al. (2001) realizaram análise epidemiológica de 164 pacientes com idade inferior a 50 anos em estudo retrospectivo de pacientes ambulatoriais que apresentaram AVE. A forma isquêmica foi diagnosticada em 141 (86%) dos pacientes com idade acima de 36 anos, da forma hemorrágica em 16 casos (9,7), enquanto que 7 pacientes apresentaram o AVE decorrente de trombose venosa. O principal fator de risco para AVEs isquêmicos foram eventos aterotrombóticos 48,22%, enquanto que a hipertensão arterial foi o principal fator de risco correlacionada aos casos de AVE hemorrágico. Entretanto, em 32% dos casos, o fator etiológico responsável pela ocorrência dos AVEs não pode ser determinado.

Joshipura (2002) investigaram a associação entre condições bucais e doenças sistêmicas através de levantamento bibliográfico, concluindo que, até o tempo presente, as condições bucais podem estar associadas com risco aumentado de AVE isquêmico e doença vascular.

Segundo Cury et al. (2003) a destruição periodontal associada a periodontite resultaria da interação entre infecção bacteriana e resposta do hospedeiro. A resposta imuno-

inflamatória atua nos tecidos gengivais para proteger o indivíduo localmente e evitar que os microorganismos se disseminem sistematicamente ou invadam os tecidos adjacentes. Porém, bactérias e seus produtos podem invadir os tecidos periodontais e entrar na corrente sanguínea. Considerando a resposta local e sistêmica que ocorre na periodontite e também a invasão de patógenos periodontais na corrente sanguínea, suspeita-se de uma possível influência da periodontite na saúde sistêmica. Os resultados quanto à causa do AVE, segundo o autor, ainda são discutidos e controversos.

Janket et al. (2003) analisou os estudos publicados em literatura, com objetivo de fornecer um resumo quantitativo da doença periodontal como fator de risco para doença cardiovascular. No estudo, quatro pesquisas foram incluídas, independentemente, os riscos relativos (RR) de cada estudo, avaliando o grau de ajuste misturado. Como resultado, os riscos relativos de eventos cardiovasculares em indivíduos com doença periodontal foram de 1,19% quando comparado com os pacientes que não apresentavam doença periodontal. Na análise estratificada, para indivíduos de 65 anos, os riscos relativos foram de 2,85%. Como resultado, a doença periodontal parece estar associada com 19% de aumento de risco futuro para as doenças cardiovasculares. Esse aumento do risco é mais proeminente (44%) em pessoas com idade de 65 anos. Embora o incremento do risco entre sujeitos com e sem doença periodontal na população geral seja modesto, por volta de 20% das causas aproximando 40% da população que apresentaram doença periodontal, esse modesto aumento poderia representar impacto moderado na saúde pública.

Dörfer et al. (2004) avaliaram as associações de diferentes parâmetros periodontais com isquemia encefálica. Em um estudo caso-controle, 303 pacientes com AVE isquêmico ou ataque isquêmico transitório e 300 pacientes controles da população receberam um completo exame clínico e radiográfico dental. Os pacientes foram examinados em média de 3 dias após a isquemia. A média de perda de inserção clínica medido em quatro sítios por dente foi utilizada como variável indicador para periodontite. Os pacientes apresentaram maior perda de inserção clínica do que o grupo controle ($p = .001$). Após o ajuste para sexo, idade, número de dentes, fatores de risco vasculares e doenças da infância e adultos, condições socioeconômicas e fatores de estilo de vida, uma média clínica de perda de inserção >6 milímetros teve 7,4 vezes (intervalo de confiança 95% 1,55-15,3), um índice gengival > 1,2 teve 18,3 vezes (5,84-57,26) e uma perda óssea radiográfica teve 3,6 vezes (1,58-8,28) maior risco de isquemia encefálica do que pacientes sem periodontite ou a gengivite, respectivamente. Os autores concluíram que a periodontite é um fator de risco independente

para isquemia encefálica e exacerbação aguda de processos inflamatórios no periodonto pode ser um gatilho para o caso de isquemia encefálica.

Elter et al. (2003) investigaram a possível associação entre periodontite ou edentulismo e derrame e/ou ataque isquêmico transitório (TIA) em estudos de risco de arteriosclerose em comunidades, analisando a etiologia, a história natural de arteriosclerose e doença clínica cardiovascular em quatro comunidades dos Estados Unidos. Foram avaliados periodontalmente 6.436 pessoas, as quais também foram analisadas quanto à determinação de AVE e TIA. Não foram encontradas associações independentes entre AVE (sozinho) e perda de inserção. Morbidade e sobrevivência do AVE podem ter resultado na inclusão de pessoas com doença periodontal menos extensa, gerando tendências na associação. Embora TIA e AVE compartilhem uma etiologia comum para arteriosclerose, TIA não resulta em morbidade persistente. Assim, qualquer relação entre periodontite e TIA seria menos suscetível e tendencioso.

Joshipura et al. (2003) avaliaram a doença periodontal e a perda dental como fatores de risco para AVE isquêmico. O estudo consistiu de 41.380 homens livres de doença cardiovascular e diabetes. Durante 12 anos de acompanhamento, a incidência de derrame foi verificada e sub-classificada pelo uso da história médica, registros médicos, exames de imagem. Os resultados sugerem que doença periodontal inicial e perda dentária podem estar associadas com risco aumentado de AVE isquêmico. Quando se avaliou a doença periodontal como uma história cumulativa, ao longo do período de acompanhamento, o risco foi similar ($RR = 1,35$ versus $1,33$). A doença periodontal e a perda dentária podem estar associadas com risco, aumentado de AVE isquêmico.

Os autores Lindsberg e Grau (2003) resumizam o conhecimento atual sobre o papel da inflamação e da infecção na patogênese do AVE isquêmico e, devido à inter-relação entre os assuntos, também revisam os mecanismos da desordem inflamatória dos vasos como uma via patogênica da aterosclerose e do AVE. Começando pela presença contínua ou ocasional de células inflamatórias no sistema vascular encefálico, estímulos que não são atualmente nem claramente definidos levam à ativação do endotélio dos microvasos cerebrais ou artérias intra ou extra cranianas. Fatores de risco de longa duração e doenças infecciosas crônicas, possivelmente em conjunto com predisposições genéticas, podem levar à ativação gradual das células mononucleares circulantes e sua entrada nos locais perivascular/subendotelial, agravando os efeitos pró-inflamatórios e pró-coagulantes nas células endoteliais (DIAZ; SEMPERE, 2004, JOHNSON; GUTHMILLER, 2007). Entretanto, critérios mais gerais para

causalidade ainda estão insuficientemente preenchidos, e o papel da infecção crônica e o da inflamação na patogênese do AVE ainda não está completamente definido.

Pussinen et al. (2004) num estudo de caso-controle investigou os níveis séricos elevados de anticorpos dos principais patógenos periodontais e a associação com AVE durante um acompanhamento de 13 anos, do qual participaram 6.590 indivíduos com idade entre 45 a 64 anos. Um dos fatores de virulência bacteriana por trás das propriedades aterogênicas do *Aa* e do *Pg* pode ser o lipopolissacarídeo (LDL), o qual ativa macrófagos e induz sua conversão em células vacuolares. Concluindo, esse estudo prospectivo forneceu a primeira evidência sorológica de que uma infecção crônica causada por patógenos periodontais *A.a.* e *P.g.* está associada com incidência de AVE.

Grau et al. (2004) realizaram um estudo caso-controle, incluindo exame clínico e radiográfico completo dos tecidos bucais duros e moles, a fim de investigar se a doença periodontal estava independentemente associada com AVE isquêmico agudo ou ataque isquêmico transitório em geral e com seus subtipos etiológicos. Foram investigados 303 pacientes hospitalizados, com isquemia encefálica aguda, 300 controles da população geral (populacionais) e 168 controles hospitalares, com idade entre 18 e 75 anos, concluindo que a doença periodontal está significativamente associada com isquemia encefálica. A gengivite e a periodontite são condições passíveis de tratamento e de prevenção. Portanto, sua identificação como fatores de risco de AVE, teriam um impacto maior na prevenção, porém requer estudos.

Söder et al. (2005) buscaram determinar o papel da periodontite no desenvolvimento da aterosclerose por meio da avaliação prospectiva do relacionamento entre doença periodontal e sinais subclínicos de aterosclerose, em 3.273 pacientes de 30 a 40 anos de idade com doença periodontal documentada de pelo menos 16 anos de duração. A correta sequência temporal e o poder da associação observados sugerem uma ligação causal entre doença periodontal e processo aterosclerótico em sua fase inicial, o que poderia criar uma base para medidas profiláticas.

Kozarov et al. (2006) relacionaram as implicações sistêmicas da doença, em particular, à presença da bactéria nos tecidos endoteliais. *Dois grupos de* indivíduos foram usados como fonte de tecidos ateromatosos. O grupo A consistiu de 120 amostras de 20 indivíduos jovens (11 do sexo masculino e 9 do feminino, seis amostras por indivíduo, média de idade 26.8 ± 8.2 anos). Constataram que os números obtidos fornecem evidência de que o DNA bacteriano encontrado em ateromas não se deve a uma contaminação de sangue bacterêmico nos canais vasculares ou material hemorrágico. Os números estão de acordo com

recentes achados, demonstrando a presença de consórcios polimicrobiais nas células epiteliais bucais. Além disto, os dados confirmam observações de bactérias periodontais invasivas vivas em placa ateromatosa. Notavelmente, as bactérias que foram visualizadas naquele estudo, a *P. gingivalis* e a *A.a.*, estavam entre as mais prevalentes bactérias periodontais, em placas. Continua havendo evidência de que as bactérias bucais podem ser encontradas, frequentemente, nas lesões ateroscleróticas, sendo a prevalência e a proporção mais altas em pacientes idosos. Os números de bactérias demonstram sua associação com o tecido e não com o sangue vascular. A *C. pneumoniae* é um pequeno componente da população bacteriana e o PCR em tempo real é um método apropriado para a detecção e quantificação de espécies bacterianas nesses tecidos.

Desvarieux et al. (2005) em estudo longitudinal de 1.056 pacientes escolhidos aleatoriamente investigaram os microorganismos na espessura íntima-média carotídea correlacionando-os com as bactérias do periodonto, especificamente com organismos associados de forma causal com doença periodontal, e a dominância bacteriana desses organismos causais em relação a outras bactérias atuantes na doença periodontal. Concluíram que esse estudo fornece evidência direta de um possível papel das bactérias periodontopatogênicas na formação da aterosclerose.

Mustapha et al. (2007) realizaram uma meta-análises analisando a associação entre a DP com elevada exposição bacteriana sistêmica e doenças cardiovasculares. Foram pesquidas no PubMed, Cochrane Controlled Trials Register, EMBASE, SCOPUS e bancos de dados. Onze publicações selecionadas foi realizada a Meta-análise. Com análises estratificadas, isto resultou em 14 análises de doença cardíaca coronária (N = 7), acidente vascular encefálico (N = 4) e espessamento da íntima-medial carótida (N = 3) como uma medida da aterosclerose precoce. A exposição bacteriana sistêmica foi medida por quantidade de bactérias periodontais (N = 1), serologia específica de periodontite (N = 12) ou Proteína C-reativa (N = 1). A doença periodontal com marcadores elevados de sistêmica exposição bacteriana foi associada fortemente com doenças cardiovasculares em comparação com indivíduos sem doença periodontal, com uma razão de probabilidades de 1,75 (intervalo de confiança de 95% (CI): 1,32-2,34; $P < 0,001$). Os autores concluíram que a doença periodontal com a exposição bacteriana elevada está associada a eventos coronarianos e aterogênese precoce, sugerindo que o nível de exposição sistêmica bacteriana da periodontite é a exposição biologicamente pertinente quanto ao risco de aterosclerose.

Nonnenmacher et al. (2007) estudaram a relação entre doença periodontal e doença arterial coronariana (CAD) com base em parâmetros clínicos e microbiológicos periodontal.

Um total de 90 indivíduos do sexo masculino, 48 a 80 anos de idade, foram incluídos neste estudo. Quarenta e cinco homens tinham CAD, que foi confirmada pela angiografia coronária. Quarenta e cinco controles pareados por idade não mostraram nenhuma história ou sintomas de CAD. Todos foram submetidos a um exame clínico periodontal, incluindo a avaliação de perda dentária, profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e sangramento à sondagem. No grupo CAD, o exame foi um dia antes angioplastia coronária. Amostras microbianas subgengivais foram tomadas e avaliadas por meio de tempo real de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para a quantidade total de bactérias e os periodontopatógenos seguintes: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra* (anteriormente *Micromonas micros*), *Pneumococcus Dialister* e *retro Campylobacter*. Em comparação com indivíduos controle, sujeitos com DAC apresentaram significativamente bolsas mais profundas (2,28 mm versus 2,96 milímetros; $P < 0,001$) e maior perda de fixação (2,85 mm versus 3,65 milímetros; $P < 0,001$) e esta diferença manteve-se estatisticamente significativa após o ajuste para o hábito de fumar. Não foram observadas diferenças significativas entre os casos e controles no que diz respeito ao número de dentes presentes. *P. intermedia* foi o único patógeno periodontal que mostrou significativamente maior contagem média de sujeitos com DAC em relação aos sem CAD. Maior contagem de bactérias totais, *P. micra*, *D. pneumosintes* e *C. rectus* foram encontrados no sem CAD. Os autores sugerem que uma relação entre periodontal doença e doença cardíaca coronária existe, embora *P. intermedia* foi o periodontopatógeno apenas relacionados à CAD.

Gotsman et al. (2007) tiveram como objetivo determinar a relação entre a doença periodontal e doença coronariana (CAD) e síndromes coronarianas agudas (ACS). Para isso 201 pacientes que apresentavam estável angina ou ACS encaminhados para angiografia coronariana foram submetidos a uma avaliação periodontal, incluindo a avaliação de agentes patogênicos periodontais. A intensidade de CAD foi determinada pelo número de artérias coronárias obstruídas. Os pacientes com CAD grave definida por múltiplos vasos tiveram destruição periodontal significativamente maior do que aqueles com CAD leve, como mostrado pelos exames clínicos periodontais. Pacientes com ACS tiveram placa significativamente maior, índice gengival e contagem de *Porphyromonas gingivalis* do que pacientes estáveis. A análise de regressão logística mostrou que o índice de placa ou a percentagem de *P. gingivalis* foram significativamente associadas com ACS. Os autores concluíram que as medidas de destruição periodontal são significativamente correlacionadas com a gravidade da CAD, enquanto que medidas periodontais estão significativamente associadas com o estado clínico cardíaco.

Numa revisão de literatura Ghizoni et al. (2008) mostraram que, nos últimos anos, diferentes estudos têm avaliado o papel da doença periodontal como um fator de risco para o desenvolvimento de diversas condições sistêmicas. Tem-se sugerido que a doença periodontal serviria como um fator de disseminação de bactérias para outros locais mais distantes do corpo, determinando o desenvolvimento de outras enfermidades ou complicações, como o nascimento de bebês prematuros e de baixo peso, endocardite bacteriana, alterações pulmonares e cardíacas. Estudos recentes têm afirmado que a doença periodontal poderia influenciar no desenvolvimento de acidentes vasculares encefálicos (AVE) isquêmicos e hemorrágicos, além de relatarem evidências da participação de periodontopatógenos na formação dos ateromas.

Ghizoni (2007) avaliou as condições periodontais de pacientes com acidente vascular encefálico (AVE), comparativamente à amostra populacional sem AVE, bem como identificar e quantificar o nível de bactérias periodontopatogênicas presentes nas áreas de bolsa periodontal com a finalidade de investigar a correlação da doença periodontal com acidente vascular encefálico. Para tanto, foram selecionados 80 pacientes de ambos os sexos, com idade entre 30-80 anos. O grupo experimental foi constituído por 20 pacientes internados em ambiente hospitalar devido à ocorrência de AVE. O grupo controle foi constituído de 60 pacientes provenientes da amostra populacional da cidade de Bauru que não apresentavam sinais e sintomas clínicos ou história familiar de AVE. Um questionário de saúde investigando as possíveis causas do AVE e outras condições sistêmicas foi aplicado a todos os pacientes. Os dois grupos foram avaliados periodontalmente quanto às medidas de profundidade de sondagem, nível de inserção, sangramento à sondagem e índice de placa. Para identificar e quantificar as bactérias periodontopatogênicas, *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, em ambos os grupos, foi coletada amostra de placa dentomicrobiana subgengival dos dois sítios com maior profundidade de sondagem de todos os pacientes, por meio da introdução de tira de papel esterilizada (PerioPaper) no sulco gengival. A análise qualitativa e quantitativa dessas bactérias foi realizada por meio de PCR convencional e em tempo real. Os dados obtidos foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) complementado pelo método de Tukey, teste de correlação de Spearman, teste “t” de Student, Mann-Whitney, Qui-Quadrado e “Odds Ratio” para avaliar a correlação entre os diferentes parâmetros clínicos periodontais com o AVE e os resultados obtidos pelo PCR convencional e PCR em tempo-real, com nível de confiança de 95%. Os resultados obtidos mostraram maior prevalência da doença periodontal no grupo teste (95%) do que no controle (28,3%). O nível de inserção à sondagem, índice de placa e

índice gengival estavam significativamente aumentados nos pacientes com AVE ($p < 0,001$). Entretanto, as medidas de profundidade de sondagem não mostraram diferenças significantes entre os grupos ($p = 0,051$), embora estivessem aumentadas para o grupo teste. A presença e quantidade da *P.gingivalis* foi estatisticamente maior no grupo teste do que no controle ($p < 0,05$). Não foi encontrado *A.actinomycescomitans* em nenhum dos grupos estudados. Do total de pacientes com AVE, 65% desenvolveram AVE-I e 35% AVE-H. Pacientes com AVE-H abrigavam maiores níveis de *P.gingivalis* do que pacientes com AVE-I. Entretanto, nesse grupo, houve correlação positiva entre bolsas mais profundas e contagem de bactérias ($p < 0,05$), o que não foi observado para AVE-H. A análise de risco por “odds ratio” identificou que pacientes com doença periodontal apresentam risco elevado de desenvolvimento de AVE (OR=48,06, IC=95%). Esses achados indicam que a doença periodontal é mais prevalente e severa em pacientes com AVE-I ou AVE-H, com grande quantidade de bactérias, especialmente *P. gingivalis*, presente em bolsas periodontais mais profundas, sugerindo que a doença periodontal poderia atuar como fator de risco ao desenvolvimento de acidentes vasculares cerebrais.

O mesmo autor e seus colaboradores, em 2012, investigaram o papel da doença periodontal no desenvolvimento do acidente vascular encefálico em pacientes por meio da avaliação das condições clínicas periodontais e os níveis subgengivais de periodontopatógenos. Vinte pacientes episódios cerebrovasculares com isquemia (I-AVE) ou hemorrágico (H-AVE) (grupo teste) e 60 pacientes sistemicamente saudáveis (grupo controle) foram avaliados quanto à: profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, sangramento à sondagem e índice de placa. *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter* ambos foram identificados e quantificados em amostras de placa subgengival por PCR convencional e em tempo real, respectivamente. O grupo teste mostrou um aumento significativo em cada um dos seguintes parâmetros: profundidade da bolsa, a perda de inserção clínica, sangramento à sondagem, índice de placa e do número de dentes ausentes quando comparado com valores de controle ($p < 0,05$, teste t não emparelhado). Da mesma forma, o grupo de teste tinha aumentado o número de sites que estavam contaminadas com *P. gingivalis* (60% x 10%, $p < 0,001$; teste qui-quadrado) e exibiu maior prevalência de doença periodontal, com odds ratio de 48,06 (IC 95% : 5,96-387,72; $p < 0,001$). Notavelmente, uma correlação positiva entre profundidade de sondagem e os níveis de *P. gingivalis* com acidente vascular encefálico isquêmico foi encontrada ($r = 0,60$, $p = 0,03$; Teste de correlação de Spearman). *A. Aggregatibacter* não foi detectada em qualquer um dos grupos por PCR convencional ou em tempo real. Os pacientes doentes com AVE tiveram bolsas mais profundas, perda de inserção

mais grave, aumento de sangramento à sondagem, índices de placa aumentados e em suas bolsas abrigou aumento dos níveis de *P. gingivalis*. Estas descobertas sugerem que a doença periodontal é um fator de risco para o desenvolvimento de hemorragia encefálica ou enfarte do miocárdio. O tratamento precoce da periodontite pode prevenir o desenvolvimento de episódios cerebrovasculares.

2.7 CONTROLE DE PLACA DENTOMICROBIANA PROFISSIONAL E PESSOAL: ASPECTOS RELEVANTES RELATIVOS À PREVENÇÃO

O controle de manutenção permite manter a saúde periodontal sem inflamação aparente e isso se deve ao fato de o controle do profissional ser eficiente na preservação da higiene bucal. Entretanto, o controle de placa deve ser conseguido de forma eficaz pelo próprio paciente, considerando que a taxa de *compliance*, ou seja, cooperação do paciente com o tratamento mediado por seu comparecimento às visitas de retorno às consultas agendadas, é baixa. Para tanto, o paciente deve apresentar a gengiva saudável com sulco raso (até 2mm), pois sítios com bolsas periodontais tornam-se mais difíceis de higienizar e atuam como reservatório para a translocação de bactérias para outros sítios da cavidade bucal, ainda não afetados pelo processo de doença periodontal. Idealmente, a manutenção de saúde bucal se dá por meio da presença de faixa adequada de gengiva ceratinizada (PASSANEZI et al., 1998, PASSANEZI; SANT'ANA, 1999).

Wilson (1996) ao avaliar o papel da cooperação dos pacientes com terapia periodontal, ressaltou que, mesmo nos estudos mais otimistas, a taxa de adesão completa aos métodos de higiene propostos foi menor que 50%. Pacientes em programas baseados nas universidades mostraram taxa de não-adesão entre 11 e 45%, enquanto em consultórios periodontais privados a adesão completa é vista em somente 1/3 dos pacientes ou menos.

Novaes Jr. e Novaes (1999) avaliaram durante 5 anos 874 pacientes que receberam tratamento periodontal, cirúrgico e não-cirúrgico. Os resultados obtidos mostraram que 46,8% de pacientes participaram da terapia periodontal de suporte. Num segundo momento, esses autores, em 2001, acompanhando os mesmos 874 pacientes, por 10 anos, avaliaram a relação entre idade, sexo, tratamento cirúrgico e não-cirúrgico. Encontraram, no grupo cirúrgico, que 43,9% dos pacientes não retornaram à clínica para as visitas de manutenção, enquanto no grupo não-cirúrgico essa taxa subiu para 53,2%, o que talvez sugerisse uma maior conscientização do problema de saúde periodontal do paciente submetido à cirurgia.

O papel preventivo do tratamento periodontal no desenvolvimento de doenças sistêmicas ficou mais evidenciado recentemente, em estudos envolvendo mulheres grávidas (DAVENPORT et al., 1998). Em 2002, López, Smith e Gutierrez avaliaram 400 mulheres grávidas de 18 a 35 anos de idade, que receberam tratamento periodontal antes da 28ª semana de gestação (n=200) ou que receberam tratamento periodontal após o parto (n=200). Os resultados mostraram que a incidência de parto prematuro (<37 semanas) ou baixo peso ao nascimento (<2,500 Kg) foi significativamente menor ($p=0,001$) no grupo que recebeu tratamento periodontal durante o pré-natal (1,84%) do que no grupo que recebeu tratamento periodontal pós-parto (10,11%), sugerindo que o tratamento periodontal durante a gestação atuaria de forma importante na prevenção de parto prematuro e baixo peso ao nascimento. Estudo posterior desses autores, envolvendo 870 pacientes de 18 a 42 anos de idade, mostrou que pacientes com gengivite durante a gestação apresentavam maior risco de ocorrência de parto prematuro e nascimento de bebês de baixo peso do que pacientes com doença periodontal que receberam tratamento durante o pré-natal (6,71% x 2,14%, OR=3.26, $p=0.0009$), mesmo após ajuste para outras variáveis de influência (OR=2.76, $p=0.008$) (LÓPEZ et al., 2005).

Recentemente, Gazolla et al. (2007) demonstraram que a incidência de parto prematuro e/ou baixo peso ao nascimento foi significativamente maior ($p=0,001$) em mulheres com doença periodontal não tratada (79%) do que em mulheres com doença periodontal que receberam tratamento periodontal durante a gestação (7,5%) ou mulheres periodontalmente saudáveis (4,1%), sugerindo mais uma vez o papel do tratamento periodontal na prevenção de outros problemas sistêmicos.

O estudo realizado por Vidal et al. (2009) teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento não-cirúrgico periodontal nos níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios (interleucina [IL] -6, proteína C-reativa [CRP], fibrinogênio e em pacientes com periodontite severa e hipertensão arterial refratária. Vinte e dois pacientes foram examinados e, aleatoriamente, divididos em dois grupos. O grupo de teste foi composto de 11 pacientes (idade média, 48,9 - 3,9 anos) que receberam tratamento periodontal, enquanto o grupo controle tinha 11 pacientes (idade média de 49,7 - 6,0 anos), cujo tratamento foi adiado por 3 meses. Dados demográficos e clínicos periodontais foram recolhidos, e testes de sangue foram realizadas para medir o níveis de IL-6, PCR e fibrinogênio meses na linha de base e 3 mais tarde. Os resultados clínicos mostraram que os teores médios de sítios com sangramento à sondagem, profundidade de sondagem (PD) 4 a 5 mm, PD milímetros $\geq$ 6, perda de inserção clínica (CAL) 4 a 5 mm e CAL $\geq$ 6 milímetros foram significativamente reduzidos no grupo

teste 3 meses após o tratamento periodontal. Não houve significativa diferenças entre os dados na linha de base e 3 meses no grupo de controle. O tratamento periodontal reduziu significativamente os níveis sanguíneos de fibrinogénio, PCR e IL-6 no grupo de teste. A terapia periodontal não-cirúrgica foi eficaz na melhoria periodontais dados clínicos e na redução dos níveis plasmáticos de IL-6, PCR e de fibrinogénio em pacientes hipertensos com periodontite severa.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Com base no exposto, o objetivo deste estudo foi identificar e correlacionar os tipos de patógenos periodontais: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *T. denticola*, *Tannerella forsythia*, *P. Nigrescens*, *F. Nucleatum* e *Agreggatibacter actinomycetemcomitans* nas placas ateromas removidos cirurgicamente de pacientes internados na UTI do Hospital Nossa Senhora da Conceição em Tubarão-SC.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os pacientes participantes deste estudo foram selecionados nas dependências do Hospital Nossa Senhora da Conceição, em Tubarão, Santa Catarina, após leitura da Carta de Informação ao Paciente e ou após Consentimento Livre e Esclarecido da família do paciente. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, sob o registro 12.008.4.02.III (ANEXO A).

4.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foram incluídos no estudo 24 pacientes agendados para o procedimento cirúrgico de endarterectomia diagnosticados através da Angiografia dos troncos supra-aórticos e intra-encefálico para estenose da carótida, de ambos os sexos, com idade entre 40-60 anos. Os critérios de inclusão para estes pacientes foram à presença de doença vascular cardíaca, doença carotídea arterosclerótica assintomática ou acidente vascular encefálico com indicação de tratamento cirúrgico para remoção do ateroma, ter sido internado há menos de 15 dias e ter consentimento do paciente ou responsável. Foram excluídos do estudo os pacientes que receberam antibioticoterapia e/ou tratamento periodontal cirúrgico ou não cirúrgico nos seis meses prévios a cirurgia.

Previamente à coleta de dados, todos os pacientes ou seus responsáveis responderam a questionário de saúde que investigou possíveis fatores de risco para a ocorrência da arterosclerose, tais como predisposição genética, fumo, alterações sistêmicas, hipertensão arterial, problemas cardiovasculares e diabetes, entre outros. A anamnese foi realizada para esclarecer dados relativos à história médica pregressa e atual do paciente.

Os pacientes foram periodontalmente avaliados por examinador único quanto às medidas de profundidade de sondagem (distância da margem gengival ao fundo do sulco ou da bolsa), índice gengival modificado proposto por Ainamo; Bay, 1975, que identifica a presença 1 ou ausência 2 de sangramento à sondagem até 10 segundos após a remoção da sonda do sulco gengival, e índice dicotômico de placa (ausência 2 ou presença 1). Embora todos os dentes da cavidade bucal tenham sido examinados, foram anotados apenas os dados relativos ao dente que apresentasse a maior profundidade de sondagem em cada sextante,

baseado no modelo proposto para o índice CPITN, no entanto considerando medidas milimétricas

4.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO DE ENDARTERECTOMIA

As cirurgias de endarterectomia foram realizadas pela equipe de Cirurgia Vascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição, em Tubarão, Santa Catarina.

O procedimento cirúrgico foi realizado com o paciente sob anestesia geral e na posição de decúbito dorsal horizontal. A incisão de aproximadamente 6 à 8 cm abaixo do lóbulo da orelha localizando-se na borda anterior do músculo esternocleidomastoideo, após o tecido celular subcutâneo e o músculo platisma foram dissecados permitindo a abertura da fascia cervical média (Figura 1).

Figura 1 - Incisão longitudinal aproximadamente 6 a 8 cm abaixo do lóbulo da orelha permitindo a abertura da fascia cervical média

Foram dissecadas as artérias carótídeas comum, interna e externa e reparadas com fitas cardíacas. Todos os pacientes submeteram-se a Heparinização sistêmica e ao aumento da pressão arterial em 20% para facilitar o fluxo sanguíneo. As artérias foram campleadas na seguinte ordem: artéria carótídea interna, comum e externa (Figura 2).

Figura 2 - Campeamento das artérias com fitas cardíacas e visualização do bulbo carotídeo

Após o campeamento foi realizada incisão longitudinal no bulbo carotídeo e abertura da carótida interna com tesoura de Pottes (Figura 3). Descolamento da placa ateromatosa (Figura 4) com descolador de placa ao nível da carótida comum no plano de clivagem envolvendo a túnica íntima e dois terços da camada média muscular. Realizado a remoção, os debris (fragmentos celulares) foram retirados com soro fisiológico limpando o leito da endarterectomia (Figura 5).

Figura 3 - Incisão linear sobre o bulbo carotídeo e visualização da placa ateromatosa

Figura 4 - Descolamento da placa ateromatosa

Figura 5 - Placa ateromatosa

As carótidas foram descampladas e os pacientes submetidos à reversão da heparina com cloridrato de protamina e suturados com auxílio de dreno suctor para redução de edemas.

4.3 COLETA DAS PLACAS ATEROMATOSAS

As amostras das placas ateromatosas foram removidas a partir das cirurgias de endarterectomia (Figura 6). Após a remoção cirúrgica da placa ateromatosa, as espécimes foram armazenadas individualmente com critérios de identificação em água destilada e conservada a -20°C até o momento da extração do DNA.

Figura 6 - Placa ateromatosa proveniente de carótida humana

4.4 EXTRAÇÃO DO DNA BACTERIANO DAS AMOSTRAS DAS PLACAS ATEROMATOSAS

Para a extração de DNA foi utilizado o QIAamp DNA Mini Kit (número de catálogo 51104, Qiagen[®], Alemanha) conforme orientações do fabricante. Vinte e cinco miligramas de cada tecido foi homogeneizado em solução PBS e, em seguida, incubado a 56°C por 24 horas com 100 µL da solução de lise celular do kit mais 20 µL da Proteinase K (número de catálogo 19133, Qiagen[®], Alemanha). Esta etapa provocou a lise da parede celular das bactérias expondo assim seus DNAs. Em seguida, este homogenato foi colocado na coluna de sílica do kit, a qual reteve o DNA e permitiu a passagem dos restos celulares. Para finalizar houve a diluição desse DNA com água ultra pura em um novo tubo e em seguida foi armazenado a -20°C.

4.5 QUANTIFICAÇÃO E QUALIFICAÇÃO DO DNA

Essa etapa teve por objetivo quantificar e verificar a qualidade do DNA extraído. O aparelho utilizado foi o espectrofotômetro Nanodrop 1000 (Thermo Scientific[®], Estados Unidos) o qual fornece os dados de absorbância em 230, 260 e 280 nanômetros após o carregamento de 2µL de amostra sem diluição. Este aparelho emite luz nos comprimentos de onda citados acima, e ao mesmo tempo detecta quanto dessa luz foi absorvida pela amostra. No caso do DNA, há a absorção da luz no comprimento de 260 nanômetros e o cálculo utilizado para a quantificação desse DNA é: $[DNA] = \text{Absorbância em 260 nanômetros} \times \text{fator de diluição} \times 40$ (constante para o DNA).

De posse desses dados, o mesmo aparelho, indicou a quantidade e a qualidade do DNA o qual foi usado no estudo. Para a etapa seguinte, reação da cadeia da polimerase (PCR), foram utilizados 10 ng de cada amostra.

4.6 REAÇÃO DA CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Todas as reações foram feitas em duplicata de acordo com a tabela abaixo:

Tabela 1 - Reagentes utilizados para realização do PCR

Reagentes	Quantidade em μL para uma reação
Amostra (10ng/ μL)	1 μL
<i>SYBR Master Mix</i>	2,5 μL
<i>Primers</i> (25 μM)	0,04 μL
Água ultra pura	1,46 μL
Volume final	5 μL

As sequências dos primers utilizados para a detecção das bactérias estão na tabela baixo:

Tabela 2 - Sequência de primers utilizados para detecção das bactérias

Primers	Sequências
Aggregatibacter actinomycetemcomitans - F	5'GGCACGTAGGCGGACCTT 3'
Aggregatibacter actinomycetemcomitans - R	5'ACCAGGGCTAAAGCCCAATC 3'
Fusobacterium Nucleatum - F	5'CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT 3'
Fusobacterium Nucleatum - R	5'TGGTCCTCACTGATTCACACAGA 3'
Porphyromonas Gingivalis - F	5'TGTAGATGACTGATGGTGAAAACC 3'
Porphyromonas Gingivalis - R	5'ACGTCATCCCCACCTTCCTC 3'
Prevotella intermedia - F	5'CCACATATGGCATCTGACGTG 3'
Prevotella intermedia - R	5'TCAATCTGCACGCTACTTGG 3'
Prevotella Nigrescens - F	5'CCGTTGAAAGACGGCCTAA 3'
Prevotella Nigrescens - R	5'CCCATCCCTTACCGGRA 3'
Tannerella Forsythia - F	5'GGGTGAGTAACGCGTATGTAACCT 3'
Tannerella Forsythia - R	5'ACCCATCCGCAACCAATAAA 3'
Treponema Denticola - F	5'CGTTCCTGGGCCTTGTACA 3'
Treponema Denticola - R	5'TAGCGACTTCAGGTACCCTCG 3'

Após a confecção dos ensaios na placa de 384 poços (número de catálogo 4343370, Applied Biosystems®, Estados Unidos), essa mesma placa foi colocada no aparelho Viia 7 (Applied Biosystems®, Estados Unidos) e as seguintes condições de ciclagem foram utilizadas para a realização da PCR: temperatura inicial de 95°C por 10 minutos para a

ativação da taq polimerase seguido de 45 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para realização da análise estatística foi verificada a associação entre as duas variáveis qualitativas nominais (presença ou ausência de bactérias X tipo de bactérias) por meio do teste Qui-quadrado significancia 5 %.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Dos 24 ateromas avaliados, 20 eram provenientes homens (83%) e 4 de mulheres (17%), com idade média de $54 \pm 11,48$ anos.

O número de dentes perdidos por sextante foi de $2,85 \pm 1,74$. Todos os pacientes apresentaram sinais de gengivite e/ou doença periodontal apresentando sangramento a sondagem e presença de placa dentomicrobiana.

Dos 24 pacientes operados 8 eram fumantes (33,3%), 17 pacientes (70,8%) apresentavam pressão arterial elevada, 7 (29,1%) eram diabéticos ou tinham parentes próximos com a doença e 18 (75%) apresentavam hipercolesterolemia. Todos os pacientes apresentavam pelo menos uma dessas características anteriores.

Por meio do teste Qui-quadrado pode-se observar associação entre presença ou ausência de bactérias e dos diferentes tipos de bactérias avaliadas nos ateromas ($p = 0,0001$). Os gráficos 1 e 2 apresentam os percentuais encontrados em cada situação e utilizados para o teste de associação.

Gráfico 1 - Percentuais dos diferentes tipos bacterianos presentes nos ateromas analisados

Gráfico 2 - Percentuais de ausência e presença para cada tipo bacteriano estudado

A tabela 3 apresenta a quantidade de ateromas com a determinada bactéria, a tabela 4 mostra o tipo de diferentes bactérias presentes em cada ateroma e a tabela 5 descreve as bactérias presentes por número de ateromas(s).

Tabela 3 - Quantidade de ateromas com a determinada bactéria

Pg	Aa	T. Forsyt	P. Nigrescens	P. Intermedia	T. Dent	F. Nucleatum
18	5	0	1	8	14	9

Tabela 4 – Tipos das diferentes bactérias por ateroma examinado

Quantidade de Bactérias	0	1	2	3	4
Carótidas	2	6	5	5	6
Porcentagem	8%	25%	21%	21%	25%

Tabela 5 - Descrição das bactérias presentes por número de ateroma(s)

Pg	2
Aa	1
P. Nigrescens	1
T. Dent	1
F. Nucleatum	1
Pg + T. Dent.	2
Pg + F. Nucleatum	2
Aa + Pg	1
Pg + T. Dent + F. Nucleatum	2
Pg + P. Intermedia + T. Dent	3
Pg + Aa + T. Dent + F. Nucleatum	1
Pg + P. Intermedia + T. Dent + F. Nucleatum	3
Pg + Aa + P. Intermedia + T. Dent	2

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Embora vários estudos sugiram a relação da doença periodontal com doenças cardiovasculares, a relação causa-efeito das duas condições ainda não está completamente elucidada. Alguns estudos demonstraram a presença de bactérias periodontopatogênicas na placa ateromatosa, enquanto outros falharam em encontrar tal associação. O presente estudo demonstrou a presença de pelo menos uma espécie de periodontopatógeno em 91,6% das biópsias de ateroma de carótida, sugerindo a influência da doença periodontal no desenvolvimento ou ruptura da placa aterosclerótica. Assim como no trabalho de Zaremba et al. (2007) as bactérias mais frequentemente identificadas no ateromas deste estudo foram *Porphyromonas gingivalis* (75%) e *Treponema denticola* (58,3%).

Esses achados sugerem que a exposição crônica à bactérias periodontopatogênicas pode ser uma das possíveis causas da formação do ateroma, apesar da sua causa ser reconhecida como multifatorial (no presente estudo pode-se observar que todos os pacientes avaliados apresentavam pelo menos mais uma possível causa da formação do ateroma, tal como, fumo, diabete, hipercolesterolemia ou hipertensão), visto que diferentes espécies bacterianas presentes somente na cavidade bucal tem sido relacionadas à formação do ateroma (CAVRINI, 2005, DESVARIEUX et al., 2005).

Essas observações estão de acordo com o estudo de Niedzielska et al. (2008) o qual demonstrou que organismos virais e bacterianos envolvidos nos processos inflamatórios crônicos, tais como a doença periodontal, têm sido apontados como fatores de risco para aterosclerose. Têm-se proposto que diversas doenças sistêmicas podem estar associadas à doença periodontal, visto que esta pode representar um foco de disseminação de bactérias altamente virulentas para outros locais do organismo, mesmo aquelas distantes da cavidade bucal, por via hematogênica, influenciando o desenvolvimento de, por exemplo, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (PAGE, 1997, KOZAROV et al., 2005, SÖDER et al., 2005, PAQUETE, BRODALA, NICHOLS, 2007).

No presente estudo pode-se observar que 67% dos ateromas possuíam mais de um tipo de bactéria periodontopatogênica e 25% apresentavam 4 diferentes tipos de espécies bacterianas pertencentes aos complexos vermelho e laranja, associadas à doença periodontal. Esses achados sugerem o papel das bactérias periodontopatogênicas no desenvolvimento do ateroma ou na ruptura da placa aterosclerótica.

Os primeiros estudos longitudinais prospectivos (coorte) foram realizados por DeStefano et al. (1993) com base em 14 anos de observação de 1000 indivíduos, observando-se aumento de 25% na incidência de doença cardíaca coronariana em pacientes com bolsas periodontais diagnosticadas clinicamente. O risco de morte foi muito mais alto em pacientes com periodontite e doença cardíaca coronariana do que em indivíduos com doença cardíaca coronariana, mas com periodonto saudável (NIEDZIELSKA et al., 2008).

Alguns investigadores sugerem que a exposição bacteriana sistêmica pode ser o mais pertinente fator biológico de risco para doenças cardiovasculares relativamente ao papel da doença periodontal, a qual apresenta forte associação com espessamento da artéria carótida (MUSTAPHA et al., 2007). O aumento da artéria carótida em sua espessura medial íntima medido pelo ultra-som, que é associado com o risco aumentado de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico em indivíduos sem história de doença vascular encefálico, ocorre 76 vezes mais em pacientes com periodontite, sugerindo que aterosclerose subclínica está presente em muitos pacientes com periodontite (FRIEDEWALD et al., 2009).

Dos 24 ateromas avaliados, somente 5 não apresentaram *P.g.* ou *A.a.* na placa ateromatosa, 79% dos ateromas apresentavam pelo menos uma dessas duas espécies de periodontopatógeno, o que está de acordo com os achados de Kozarov et al. (2005), os quais observaram DNA de agentes infecciosos orais, tais como *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a.*), identificados por meio de PCR, em ateromas, podendo contribuir para o desenvolvimento da lesão inflamatória vascular.

Esses achados são relevantes, pois, dentre os mecanismos que associam a doença periodontal com alterações cardíacas, destaca-se o papel da bacteremia associada aos lipossacarídeos produzidos pelas bactérias, que induz a migração de células inflamatórias nos vasos sanguíneos maiores, agregando plaquetas devido a colágeno degradado, a trombina e aos microrganismos encontrados na cavidade bucal, tal como, a *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), gerando a formação de trombos, cuja etiologia também pode estar associada à proteína C reativa (DESHPANDE; KHAN; GENCO, 1998), cujo níveis encontram-se elevados em processos inflamatórios crônicos, como no caso da doença periodontal. *A. actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* também podem invadir células epiteliais, um mecanismo provavelmente envolvido em migração para tecidos mais profundos, onde a infiltração causa danos à célula (MEYER; FIVES-TAYLOR, 1998).

Alguns estudos sugeriram risco aumentado de AVE isquêmico em pacientes com doença periodontal (GHIZONI, 2007, GHIZONI et al., 2012), outro quando da perda de grande número de dentes (JOSHIPURA et al., 2003). Outros estudos ainda associaram a

perda dentária com doenças cardiovasculares (DeSTEFANO et al. 1993, PAUNIO et al. 1993, LOESCHE, 1994, LOESCHE et al. 1998). Desvarieux et al. (2003) demonstraram que pacientes com perda dentária apresentaram maior prevalência de placas ateromatosas e, quanto maior o número de dentes perdidos, maior a prevalência dos ateromas. Embora a causa da perda dentária não pudesse ser estabelecida, pode-se considerar que quanto maior o número de dentes perdidos em população mais idosa, mais provável é que a causa da perda dentária seja a doença periodontal. Embora o dente seja perdido com a doença periodontal, seus efeitos sistêmicos persistem.

A definição da relação causa-efeito entre doença periodontal e doenças cardiovasculares é difícil devido à multiplicidade de fatores de risco ao desenvolvimento dos ateromas. No entanto, algumas evidências têm sugerido como demonstradas anteriormente, que a doença periodontal poderia contribuir para a formação de placas ateromatosas, consequentemente contribuindo para o desenvolvimento de lesões cardíacas e cerebrais. Apesar do presente trabalho demonstrar a associação entre a presença/ausência de bactérias periodontopatogênicas e os tipos de bactérias, ele apresenta limitações, tais como, a ausência da quantificação de cada uma das bactérias presentes no ateroma e da avaliação da presença dessas bactérias na bolsa periodontal dos pacientes avaliados. Dessa forma sugere-se outros trabalhos onde possam ser avaliados a doença periodontal e identificação e quantificação das bactérias presentes tanto no periodonto quanto nas placas ateromatosas removidas cirurgicamente.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Dentro das dificuldades desse estudo pode-se concluir que:

- Existe associação entre presença ou ausência de bactérias e os diferentes tipos de bactérias avaliadas nos ateromas ($p=0,0001$);
- Dos ateromas avaliados 92% apresentaram bactérias do complexo vermelho e Aa, ou seja, bactérias periodontopatogênicas.
- Todos os pacientes que apresentaram bactérias em seus ateromas possuíam pelo menos mais uma possível causa da formação da placa ateromatosa.
- As bactérias mais frequentemente encontradas foram a *Porphyromonas gingivalis* (75%) e o *Treponema denticola* (58,3%).
- 67% dos ateromas possuíam mais de um tipo de bactéria periodontopatogênica e 25% apresentavam 4 diferentes tipos de espécies bacterianas pertencentes aos complexos vermelho e laranja, associadas à doença periodontal.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AIMETTI, M.; ROMANO, F.; NESSI, F. Microbiological analysis of periodontal pockets and carotid atheromatous plaques in advanced chronic periodontitis patients. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 9, p. 1718-1723, Sept. 2007.
- AINAMO, J. Epidemiologia da doença periodontal. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontologia clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. cap. 2, p. 41-53.
- ANDREWS, M.; FARNHAM, S. Brain abscess secondary to dental infection. **Gen Dent**, Chicago, v. 38, n. 3, p. 224-225, May-June 1990.
- BAELUM, V.; PAPAPANOU, P. NCPITN and the epidemiology of periodontal disease. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v. 24, n. 6, p. 367-368, Dec. 1996.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo: patologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- BUCKLEY, L. A.; CROWLEY, M. J. A longitudinal study of untreated periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 11, n. 8, p. 523-530, Sept. 1984.
- BUJA, L. M. Is inflammation the critical factor linking vulnerable coronary plaques to clinical coronary disease? **Am J Med**, New York, v. 114, n. 7, p. 607-608, May 2003.
- CAIRO, F. et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques. A controlled clinical and laboratory trial. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 39, n. 6, p. 442-446, Dec. 2004.
- CAVRINI, F. et al. Molecular detection of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in carotid and aortic atheromatous plaques by FISH: report of two cases. **J Med Microbiol**, Edinburgh, v. 54, n. 1, p. 93-96, Jan. 2005.
- CHERIAN, P. et al. Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes. **Stroke**, New York, v. 34, n. 9, p. 2132-2137, Sept. 2003.
- CHIAPINOTTO, G. A. Etiologia e prevenção da doença periodontal. In: PINTO, V. G. **Saúde Bucal Coletiva**. 4. ed. São Paulo: Ed. Santos, 2000. cap. 15, p. 429-444.
- COLOMBO, A. P. et al. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 73, n. 4, p. 360-369, Apr. 2002.
- CORTELLI, S. C. et al. Detection of *Actinobacillus actinomycetenum* in unstimulated saliva of patients with chronic periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 76, p. 204-209, 2005.
- CUNHA, A. C. P.; CHAMBRONE, L. A. Prevalência de gengivite em crianças de um nível social baixo. **Rev Periodontia**, Taubaté, v. 7, p. 6-10, jan./abr. 1998.
- CURY, P. R. et al. Periodontite: fator de risco para doenças sistêmicas? **RGO**, Porto Alegre, v. 51, p. 210-214, out. 2003.

DANESH, J.; COLLINS, R.; PETO, R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? **Lancet**, London, v. 350, n. 9075, p. 430-436, Aug. 1997.

DANESH, J. et al. Risk factors for coronary heart disease in acute-phase proteins. A population-based study. **Eur Heart J**, London, v. 20, p. 954-959, 1999.

DAVENPORT, E. S. et al. The East London Study of maternal chronic periodontal disease and preterm low birth weight infants: study design and prevalence data. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 3, n. 1, p. 213-221, July 1998.

DELANEY, J. E. Periodontal and soft-tissue abnormalities. In: JOHNSEN, D. C.; TINANOFF, N. **The dental clinics of North America: dental care for the preschool child**. Philadelphia: Saunders Company; Oct. 1995. cap. 39, p. 837-50.

DESHPANDE, R. G.; KHAN, M. B.; GENCO, C. A. Invasion of aortic and heart endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. **Infect Immun**, Washington, v. 66, n. 11, p. 5337-5343, Nov. 1998.

DeSTEFANO, F. et al. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. **BMJ**, London, v. 306, n. 6879, p. 688-691, Mar. 1993.

DESVARIEUX, M. et al. Relationship between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque. The oral infections and vascular disease epidemiology study (INVEST). **Stroke**, New York, v. 34, n. 9, p. 2120-2125, Sept. 2003.

DESVARIEUX, M. et al. Periodontal microbites and carotid intima-media thickness: the oral infections and vascular disease epidemiology study (INVEST). **Circulation**, Hagerstown, v. 111, n. 5, p. 576-582, Feb. 2005.

DIAZ, J.; SEMPERE, A. P. Cerebral ischemia: new risk factors. **Cerebrovasc Dis**, New York, v. 17, p. 43-50, 2004. Supplement 1.

DIBART, S. Children, adolescents and periodontal diseases. **J Dent**, Bristol, v. 25, n. 2, p. 79-89, Mar. 1997.

DÖRFER, C. E. et al. The association of gingivitis and periodontitis with ischemic stroke. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 31, n. 5, p. 396-401, May 2004.

ELTER, J. R. et al. Relationship of periodontal disease and edentulism to stroke/TIA. **J Dent Res**, Chicago, v. 82, n. 12, p. 998-1001, Dec. 2003.

FORD, P. J. et al. Inflammation, heat shock proteins and periodontal pathogens in atherosclerosis: an immunohistologic study. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 21, n. 4, p. 206-211, Aug. 2006.

FOURRIER, F. et al. Colonization of dental plaque: a source of nosocomial infections in intensive care unit patients. **Crit Care Med**, New York, v. 26, n. 2, p. 301-308, Feb. 1998.

FULLER, G.; MANFORD, M. **Neurologia: um texto ilustrado e em cores**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

- FRIEDEWALD, V. E. et al. The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology Editors' Consensus: periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. **Am J Cardiol**, New York, v. 104, n. 1, p. 59-68, July 2009.
- GAZOLLA, C. M. et al. Evaluation of the incidence of preterm low birth weight in patients undergoing periodontal therapy. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 5, p. 842-848, May 2007.
- GENCO, R.; ZAMBON, J. Revisão geral dos fatores de risco para doença periodontal e implicações para o diabetes e doenças cardiovasculares. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MEDICINA BUCAL. Dental Learning Systems, 1998
- GHIZONI, J. S. **Avaliação e correlação da doença periodontal com acidente vascular encefálico por meio da identificação e quantificação da *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por PCR convencional e PCR em tempo real.** 2007. 142 p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2007.
- GHIZONI, J. S. et al. Periodontal disease as an adjunct factor for the development of stroke and arterosclerosis. **RFO UPF**, Passo Fundo, v. 13, n. 3, p. 83-87, set./dez. 2008.
- GHIZONI, J. S. et al. Increased levels of *Porphyromonas gingivalis* are associated with ischemic and hemorrhagic cerebrovascular disease in humans: an in vivo study. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 20, n. 1, p. 104-112, Feb. 2012.
- GOODSON, J. M. et al. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 9, n. 6, p. 472-812, Nov. 1982.
- GOTSMAN, I et al. Periodontal destruction is associated with coronary artery disease and periodontal infection with acute coronary syndrome. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 5, p. 849-858, May 2007.
- GRAU, A. J. et al. Association between acute cerebrovascular ischemia and chronic and recurrent infection. **Stroke**, New York, v. 28, p. 1714-1729, 1997.
- GRAU, A. J. et al. Periodontal disease as a risk factor for ischemic stroke. **Stroke**, New York, v. 35, n. 2, p. 496-501, Feb. 2004.
- HAFFJAE, A. D. et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 25, n. 5, p. 346-353, May 1998.
- HARASZTHY, V. I. et al. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. **J Periodontol**, Chicago, v. 71, n. 10, p. 1554-1560, Oct. 2000.
- HART, R. G.; MILLER, V. T. Encefálico infarction in young adults: a practical approach. **Stroke**, New York, v. 14, n. 1, p. 110-114, Jan./Feb. 1983.
- HENDLER, B. H.; QUINN, P. D. Fatal mediastinitis secondary to odontogenic infection. **J Oral Surg**, v. 36, p. 308-10, Apr. 1978.
- HERZBERG, M. C.; WEYER, M. W. Dental plaque, platelets, and cardiovascular diseases. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 3, n. 1, p. 151-160, July 1998.

- HERZBERG, M. C. et al. The platelet interactivity phenotype of *Streptococcus sanguis* influences the course of experimental endocarditis. **Infect Immun**, Washington, v. 60, n. 11, p.4809-4818, Nov. 1992.
- HUGOSON, A. et al. Distribution of periodontal disease in a Swedish adult population 1973, 1983 and 1993. **J ClinPeriodontol**, Copenhagen, v. 25, n. 7, p. 542-548, July 1998.
- INGHAM, H. R. et al. Abscesses of the frontal lobe of the brain secondary to covert dental sepsis. **Lancet**, London, v. 2, n. 2(8088), p. 497-499, Sept. 1978.
- JANKET, S. J. et al. Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod**, St. Louis, v. 95, n. 5, p. 559-569, May 2003.
- JOHNSON, G. K.; GUTHMILLER, J. M. The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 44, p. 178-194, 2007.
- JOSHIPURA, K. The relationship between oral conditions and ischemic stroke and peripheral vascular disease. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 133, p. 23S-30S, June 2002. Supplement 1.
- JOSHIPURA, K. J. et al. Periodontal disease, tooth loss, and incidence of ischemic stroke. **Stroke**, New York, v. 34, n. 1, p. 47-52, Jan. 2003.
- KINANE, D. F.; LOWE, G. D. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 23, p. 121-126, June 2000.
- KINANE, D. F.; RADVAR, M. The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy. **J Periodontol**, Chicago, v. 68, n. 5, p. 467-472, May 1997.
- KLEIN, D. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations. **Trends Mol Med**, Oxford, v. 8, n. 6, p. 257-260, June 2002.
- KOZAROV, E. et al. Detection of bacterial DNA in atheromatous plaques by quantitative PCR. **Microbes Infect**, Paris, v. 8, n. 3, p. 687-693, Mar. 2006.
- KOZAROV, E. V. et al. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, Dallas, v. 25, n. 3, p. e-17-e18, Mar. 2005.
- KRISTENSEN, B. et al. Epidemiology and etiology aged 18 to 44 years in Northern Sweden. **Stroke**, New York, v. 28, n. 9, p. 1702-1709, Sept. 1997.
- LADEIA, R. T.; BARBOZA, C. C. **Doença periodontal e alterações sistêmicas**. Disponível em: <<http://www.apcd.org.br/biblioteca/jornal/2002/08/coa.asp>>. Acesso em: 28 fev. 2005.
- LAMONT, R. J.; YILMAZ, O. In or out: the invasiveness of oral bacteria. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 30, p. 61-69, 2002.
- LIBBY, P. Arteriosclerose: o novo ponto de vista. **Scient Amer Bras**, São Paulo, v. 1, n. 7, p. 54-63, Maio 2002.

- LINDSBERG, P. J.; GRAU, A. J. Inflammation and infections as risk factors for ischemic stroke. **Stroke**, New York, v. 34, n. 10, p. 2518-2532, Oct. 2003.
- LISTGARTEN, M. A.; SCHIFTER, C. C.; LASTER, L. 3-year longitudinal study of the periodontal status of an adult population with gingivitis. **J ClinPeriodontol**, Copenhagen, v. 12, n. 3, p. 225-238, Mar. 1985.
- LOESCHE, W. J. Periodontal disease as a risk factor for heart disease. **Compendium**, Newtown, v. 15, n. 8, 976, 978-982, 985-986, Aug. 1994.
- LOESCHE, W. J. et al. The relationship between dental disease and encefálico vascular accident in elderly in United States veterans. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 3, n. 1, p. 161-174, July 1998.
- LOOMER, P. M. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 34, p. 49-56, 2004.
- LÓPEZ, N. J.; SMITH, P. C.; GUTIERREZ, J. Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. **J Periodontol**, Chicago, v. 73, n. 8, p. 911-924, Aug. 2002.
- LÓPEZ, N. J. et al. Periodontal therapy reduces the rate of preterm low birth weight in women with pregnancy-associated gingivitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 76, p. 2144-2153, 2005. Supplement 11.
- LOWE, G. D. Dental disease, coronary heart disease and stroke, and inflammatory markers: what are the associations, and what do they mean? **Circulation**, Dallas, v. 109, n. 9, p. 1076-1078, Mar. 2004.
- MATAR, G. M. et al. Two-step PCR-based assay for identification of bacterial etiology of otitis media with effusion in infected Lebanese children. **J ClinMicrobiol**, Washington, v. 36, n. 5, p. 1185-1188, May 1998.
- MATILLA, K. et al. Association between dental health and acute myocardial infraction. **Br Med J**, v. 298, p. 779-782, 1989.
- MEALEY, B. L.; OCAMPO, G. L. Diabetes mellitus and periodontal disease. **Periodontol 2000**, Singapore, v. 44, p. 127-143, 2007.
- MEDEIROS, U. V.; CARVALHO, J. C. C. Estudo sobre as condições da saúde bucal da população: programa comunitário de atenção periodontal. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 165-170, maio/jun. 1990.
- MEYER, D. H.; FIVES-TAYLOR, P. M. Oral pathogens: from dental plaque to cardiac disease. **Curr Opin Microbiol**, London, v. 1, n. 1, p. 88-95, Feb. 1998.
- MICHALOWICZ, B. S.; DURAND, R. Maternal periodontal disease and spontaneous preterm birth. **Periodontol 2000**, Singapore, v. 44, p. 103-112, 2007.
- MORRISON, H. I.; ELLISON, L. F.; TAYLOR, G. W. Periodontal disease and risk of fatal coronary heart and cerebrovascular diseases. **J Cardiovasc Risk**, London, v. 6, n. 1, p. 7-11, Feb. 1999.

MUSTAPHA, I. Z. et al. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 12, p. 2289-2302, Dec. 2007.

NENCINI, P. et al. Incidence of stroke in young adults in Florence, Italy. **Stroke**, New York, v. 19, n. 8, p. 977-981, Aug. 1998.

NIEDZIELSKA, I. et al. The effect of chronic periodontitis on the development of atherosclerosis: review of the literature. **Med Sci Monit**, Warsaw. 14, n. 7, p. RA103-106, July 2008.

NONNENMACHER, C. et al. Periodontal microbiota in patients with coronary artery disease measured by real-time polymerase chain reaction: a case-control study. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 9, p. 1724-1730, Sept. 2007.

NORDERYD, O.; HUGOSON, A. Risk of severe periodontal disease in a Swedish adult population: a cross-sectional study. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 25, n. 12, p. 1022-1028, Dec. 1998.

NOVAES, A. B. Jr.; NOVAES, A. B. Compliance with supportive periodontal therapy. Part 1. Risk of non-compliance in the first 5-year period. **J Periodontol**, Chicago, v. 70, n. 6, p. 679-682, June 1999.

O'BRIEN-SIMPSON, N. M. et al. Antigens of bacteria associated with periodontitis. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 35, p. 101-134, 2004.

OFFENBACHER, S. Periodontal diseases: pathogenesis. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 1, n. 1, p. 821-878, Nov. 1996.

OFFENBACHER, S.; BECK, J. D. A perspective on the potential cardioprotective benefits of periodontal therapy. **Am Heart J**, St. Louis, v. 149, n. 6, p. 950-954, June 2005.

OPPERMAN, R. V. et al. Epidemiologia das doenças periodontais. **Rev Periodontia**, Taubaté, v. 15, n. 4, p. 63-76, 2005.

PADILLA, C. et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 41, n. 4, p. 350-353, Aug. 2006.

PAGE, R. C. et al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 14, p. 216-248, June 1997.

PAGE, R. C. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 3, n. 1, p. 108-120, July 1998.

PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases: epidemiology. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 1, n. 1, p. 1-36, Nov. 1996.

PAPAPANOU, P. N.; LINDHE, J. Epidemiologia da doença periodontal. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantodontia Oral**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap. 2, p. 43-65.

- PAQUETE, D. W.; BRODALA, N.; NICHOLS, T. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection. **Periodontol 2000**, Singapore, v. 44, p. 113-126, 2007.
- PASSANEZI, E. et al. Planejamento periodontal tendo em vista tratamentos estético e protético. In: GONÇALVES, E. A. N.; FELLER, C. **Atualização na clínica odontológica**. São Paulo: Artes Médicas, 1998. cap. 20, p. 481-540.
- PASSANEZI, E.; SANT'ANA, A. C. P. Papel da oclusão traumatogênica em periodontia e implantologia. In: TUNES, U. R.; RAPP, G. **Atualização em periodontia e implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, 1999. cap. 14, p. 253-293.
- PAUNIO, K. et al. Missing teeth and ischemic heart disease in men aged 45-64 years. **Eur Heart J**, London, v. 14, p. 54-56, Dec. 1993. Supplement K.
- PINTO, V. G. Brasil: uma visão geral em 1995. **Atualidade odontológica**, v. 11, p.27-35, 1995.
- PINTO, V. G. Epidemiologia das doenças bucais no Brasil. In: KRIGGER, L. (Coord.). **Promoção de saúde bucal**. São Paulo: Artes Médicas, 1997. p. 27-41.
- PROTÁZIO, L. da L. et al. **Endotélio**: doenças cardiovasculares, São Paulo: Atheneu, 2003.
- PUCAR, A. et al. Correlation between atherosclerosis and periodontal putative pathogenic bacterial infections in coronary and internal mammary arteries. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 4, p. 677-682, Apr. 2007.
- PUSSINEN, P. J. et al. Antibodies to periodontal pathogens and stroke risk. **Stroke**, New York, v. 35, n. 9, p. 2020-2023, Sept. 2004.
- RAGHAVENDRAN, K.; MYLOTTE, J. M.; SCANNAPIECO, F. A. Nursing home-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: the contribution of dental biofilms and periodontal inflammation. **Periodontol 2000**, Singapore, v. 44, p. 164-177, 2007.
- RIDKER, P. M.; GLYNN, R. J.; HENNEKENS, C. H. C-reactive proteins adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. **Circulation**, Dallas, v. 97, n. 20, p. 2007-2011, May 1998.
- ROBERTS, F. A.; DARVEAU, R. P. Beneficial bacteria of the periodontium. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 30, p. 40-50, 2002.
- ROMANO, F.; BARBUI, A.; AIMETTI, M. Periodontal pathogens in periodontal pockets and in carotid atherosclerotic plaques. **Minerva Stomatol**, Torino, v. 56, n. 4, p. 169-179, Apr. 2007.
- ROSS, R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. **N Engl J Med**, Boston, v. 340, n. 2, p. 115-126, Jan. 1999.
- SACCO, R. L.; HAUSER, W. A.; MOHR, J. P. Hospitalized stroke in blacks and hispanics in Northern Manhattan. **Stroke**, New York, v. 22, p. 1491-1496, 1991.

SAKAMOTO, M., et al. Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real time PCR. **Microbiol Immunol**, Tokyo, v. 45, n. 1, p. 39-44, 2001.

SHELBURNE, C. E. et al. Quantitation of bacteroidesforsythus in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction. **J Microbiol Methods**, Amsterdam, v. 39, n. 2, p. 97-107, Jan. 2000.

SLOTS, J. Bacterial specificity in adult periodontitis: a summary of recent work. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 13, n. 10, p. 912-917, Nov. 1986.

SLOTS, J.; KAMMA, J. J. General health risk of periodontal disease. **Int Dent J**, London, v. 51, n. 6, p. 417-427, Dec. 2001.

SOCRANSKY, S. S. et al. New concepts of destructive periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 11, n. 1, p. 21-32, Jan. 1984.

SOCRANSKY, S. S.; et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 25, n. 2, p. 134-144, Feb. 1998.

SÖDER, P. O. et al. Early carotid atherosclerosis in subjects with periodontal diseases. **Stroke**, New York, v. 36, n. 6, p. 1195-1200, June 2005.

SYRJÄNEN, J. et al. Dental infections in association with encefálico infarction in young and middle-aged men. **J Intern Med**, Oxford, v. 225, n. 3, p. 179-184, Mar. 1989.

UMEDA, M. et al. The utility of whole saliva to detect the oral presence of periodontopathic bacteria. **J Periodontol**, Chicago, v. 69, n. 7, p. 828-833, July 1998.

van WINKELHOFF, A. J.; RAMS, T. E.; SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 10, p. 45-78, Feb. 1996.

van WINKELHOFF, A. J.; SLOTS, J. Actinobacillusactinomycetemcomitans and Porphyromonasgingivalis in nonoral infections. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 20, p. 122-135, June 1999.

VIDAL, F. et al. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactiveprotein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. **J Periodontol**, Chicago, v. 80, n. 5, p. 786-791, May 2009.

WILSON, T. G. Jr. Compliance and its role in periodontal therapy. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 12, p. 16-23, Oct. 1996.

WU, T. et al. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: the first national health and nutrition examination survey and its follow-up study. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 160, n. 18, p. 2749-2755, Oct. 2000.

ZAREMBA, M. et al. Evaluation of the incidence of periodontitis-associated bacteria in the atherosclerotic plaque of coronary blood vessels. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 2, p. 322-327, Feb. 2007.

ZEE, K. Y.; SAMARANAYAKE, L. P.; ATTSTRÖM, R. Predominant cultivable supragingival plaque in chinese “rapid” and “slow” plaque formers. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 23, n. 11, p. 1025-1031, Nov. 1996.

ZÉTOLA, V. H. F. et al. Acidente vascular encefálico em pacientes jovens: análise de 164 casos. **Arq Neuropsiquiatr**, São Paulo, v. 59, n. 3-B, p. 740-745, 2001.

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP UNISUL

UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP UNISUL
Pedra Branca, 12 de abril de 2012.

Registro no CEP (código): 12.008.4.02.III

Ao pesquisador(a): Prof(a). Janaina Salomon Ghizoni
Curso de Odontologia - Campi TB

Prezado(a) Senhor(a),

Vimos, através deste, informar que o projeto de pesquisa "Identificação de bactérias periodontopatogênicas em placas ateromatosas de carótidas humanas de pacientes internados em unidade de terapia intensiva", foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNISUL. Este CEP-UNISUL segue a legislação federal brasileira. Trata-se de colegiado criado para contribuir ao desenvolvimento da pesquisa na UNISUL dentro de elevados padrões éticos. Avalia, eticamente, projetos de pesquisas em seres humanos (não somente os da área de saúde), projetos envolvendo biossegurança, pesquisas com cooperação estrangeira, pesquisas de novos fármacos, novas vacinas ou novos testes diagnósticos, ou qualquer projeto de pesquisa que envolva um problema que exija avaliação ética.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informado imediatamente ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNISUL.

Cordialmente,

Prof. Fernando Hellmann
Coordenador do CEP-UNISUL

UNISUL Universidade do Sul de Santa Catarina
Pro-Reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP UNISUL