UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
PÓS-GRADUAÇÃO EM PERIODONTIA

**Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de
câncer de mama sob tratamento quimioterápico**

KELLY ROCIO VARGAS VILLAFUERTE

RIBEIRÃO PRETO

2014

KELLY ROCIO VARGAS VILLAFUERTE

Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de
câncer de mama sob tratamento quimioterápico

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo, como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em Periodontia

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Bazan Palioto

RIBEIRÃO PRETO

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Villafuerte, Kelly Rocio Vargas

Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer de mama sob tratamento quimioterápico/ orientadora Daniela Bazan Palioto. Ribeirão Preto 2014.

Pag.: 95.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de concentração: Periodontia.

Orientadora: Daniela Bazan Palioto.

1. Doença periodontal. 2. Câncer ginecológico. 3. Quimioterapia.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Kelly Rocio Vargas Villafuerte

Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer de mama sob tratamento quimioterápico.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Periodontia

Aprovado em: ____ / ____ / 2014

Banca Examinadora

Prof. (a). Dr.(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (a). Dr.(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (a). Dr.(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

“O que você faz com amor e cuidado tem uma chance de fazer diferença, tanto para você como para a vida de outras pessoas. Tudo o que se faz sem amor e sem convicção é fadado ao fracasso e à perda de tempo, para você e para os outros”

Wim Wenders

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Leoncio Vargas Santander e Paulina Villafuerte de Vargas, pelo amor incondicional em todo momento, pela minha formação moral, incentivo, dedicação, determinação, perseverança, força, pela ajuda e apoio em todos meus projetos de vida. A vocês, devo TUDO! Amo vocês, meus grandes exemplos de vida.

À minha querida irmã,

Zulema Vargas Villafuerte, pelo seu amor, amizade, atenção, compreensão, incentivo e ajuda desprendida durante todo este período distante, mas com os corações juntos. Te amo muito minha querida irmã. Torço pelo seu sucesso, hoje e sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Que me deu o maior presente, o dom da vida. Uma vida muito abençoada pelas oportunidades e sonhos que Ele me permite realizar, pela força, pela coragem, esperança, alegria e sabedoria para vivê-la como se tudo fosse um milagre.

À minha orientadora,

Profa. Dra. **Daniela Bazan Palioto,**

OBRIGADA pela confiança, compreensão, pelo seu exemplo profissional, pela sua disponibilidade, tempo, pela ajuda e paciência. Meu carinho e gratidão por me permitir dar mais um passo em minha vida profissional.

Aos Professores do departamento de Ginecologia do Hospital das Clínicas, **Prof. Francisco José Candido dos Reis, Prof. Hélio Humberto Angotti Carrara,** obrigada pela sua ajuda para a realização deste projeto. Serei grata para sempre.

Aos professores do curso de Periodontia, **Prof. Arthur Belém Novaes Junior, Prof. Márcio Fernando de Moraes Grisi, Prof. Sérgio Luis Scombatti de Souza, Prof. Mario Taba Junior,** obrigada pelos conhecimentos transmitidos durante estes dois anos. Meu carinho e gratidão para todos vocês.

Ao professor **Michell Reis Messor**a pela ajuda, incentivo e apoio. Sempre atencioso, é, para mim, exemplo de perseverança, dedicação à Periodontia e amor à pesquisa, meus sinceros agradecimentos e admiração.

Aos meus colegas do mestrado e amigos do doutorado: **Danilo Maeda, Patrícia Garani, Luciana Maia, Mariana Sales, Cristine D Almeida, Paula Pessoa, André Moreira, Felipe Santos, Tulio Pignaton, Gustavo Vieira, Carolina Delmondes, e Umberto Ramos** obrigada pela amizade e por compartilhar estes dois anos de muito aprendizado.

A **Felipe Torres e Carolina Rego,** muito obrigada pela sua valiosa ajuda. Vocês foram muito essenciais nesta etapa da minha vida, serei grata para sempre.

À **Maria Helena Mendonça Abud** e a **Eva Carvalho** que me acolheram no seio da sua família, oferecendo-me o carinho, a preocupação e o aconchego que a mãe oferece para suas filhas. Obrigada por me deixar sentir, muitas vezes, como se estivesse em casa.

À minhas **pacientes** participantes pela cooperação, esforço, e pela luta sem as quais este trabalho não seria possível, pelo carinho que tiveram comigo, pela confiança, por me ensinar a valorizar as coisas simples e a ver a vida como um milagre.

Quero agradecer a meus queridos amigos, aqueles que ainda estão em Ribeirão Preto e aqueles que já retornaram a seus países: **Karen, Dania, Blanca, Cecilia, Isela, Diana, Marta e Mario** pelos bons momentos compartilhados, risos, pelos conselhos e pelo seu carinho.

Obrigada a todos os funcionários desta instituição, de forma especial à **Tati, Dulce, Daniela, Carla Daniela e Suely**, pela colaboração e pelo carinho.

Às enfermeiras do Hospital das Clínicas em especial a **Raquel e Alaíde** pela sua ajuda em todo momento e pelo auxílio e atenção desprendidos.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP)** da Universidade de São Paulo e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo apoio financeiro para a realização deste estudo.

Às minhas amigas do Peru **Flor Eliana Santa Cruz e Jennifer Lopes Granada** obrigada pelo seu carinho e pela força.

RESUMO

VARGAS-VILLAFUERTE, K. R.V. **Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer de mama sob tratamento quimioterápico.** 2014. 95f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Objetivo: Este trabalho avaliou as condições periodontais em mulheres com câncer de mama, sob tratamento quimioterápico, e monitorou o efeito do tratamento periodontal nas condições clínicas e sistêmicas dessas pacientes. **Materiais e Métodos** As pacientes foram divididas em quatro grupos: pacientes controles saudáveis (SAU) (n=16); pacientes com câncer e sem doença periodontal (CAN) (n=15); pacientes que não tinham câncer porém que tinham doença periodontal (DP) (n=18); e pacientes com câncer e com doença periodontal (CAN-DP) (n=10). Os parâmetros clínicos avaliados foram: Índice de Placa (IP), Índice Gengival (IG), Profundidade de Sondagem (PS), Nível Clínico de Inserção (NCI) e os parâmetros hematológicos (proteína C-reativa –PCR) e a contagem total de neutrófilos (PMN) foram avaliados no *baseline*, aos 45 dias e aos 90 dias após terapia periodontal não-cirúrgica.

Resultados: No *baseline*, os grupos DP e CAN-DP exibiram maiores valores de PS, NCI, IP, IG ($p \leq 0,01$ e $p \leq 0,01$) do que os grupos SAU e CAN. Os níveis de PCR não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais, e a contagem de neutrófilos foi estatisticamente maior para o grupo DP ($p < 0,05$). Após o tratamento periodontal, observou-se uma redução significativa ($p < 0,05$) de PS no grupo CAN e no grupo DP aos 90 dias em relação ao *baseline*. O grupo DP exibiu um ganho de inserção clínica significativo aos 45 e 90 dias em relação ao *baseline* ($p < 0,05$). Houve redução significativa do índice de placa aos 45 e 90 dias para os grupos SAU, DP e CAN-DP ($p \leq 0,05$). Todos os grupos exibiram redução significativa no IG tanto ao 45 quanto aos 90 dias ($p < 0,05$). Entretanto, aos 90 dias, essa redução foi estatisticamente maior para o grupo SAU do que para o grupo CAN ($p < 0,05$). Aos 90 dias pós-tratamento periodontal, o grupo CAN-DP exibiu maior frequência de bolsas residuais ($p < 0,05$), menor redução de profundidade de sondagem ($p < 0,05$) e maior risco de progressão da doença ($p < 0,05$) do que o grupo DP. Os grupos DP e CAN apresentaram uma redução nos níveis da PCR aos 45 dias. Esta redução foi estatisticamente significativa para o grupo PC e CAN, além disso, o grupo CAN mostrou uma diferença estatisticamente significativa aos 90 dias quando comparado ao *baseline*. O grupo DP teve uma significativa redução de neutrófilos aos 45 dias, quando comparado aos valores do *baseline*. **Conclusão:** Os resultados deste estudo não conseguiram detectar a associação entre doença periodontal e câncer. Embora o tratamento periodontal reduza os marcadores clínicos inflamatórios de gengivite e de periodontite e os parâmetros hematológicos tanto em pacientes saudáveis como nos pacientes com câncer e em quimioterapia. Porém, essa redução é mais palpável nos pacientes sem câncer mostrando que a doença e/ou a quimioterapia prejudica o controle inflamatório.

Palavras chave: doença periodontal, câncer de mama, quimioterapia, marcadores inflamatórios.

ABSTRACT

ABSTRACT

VARGAS-VILLAFUERTE K.R. **Assessment of periodontal conditions in women with breast cancer undergoing chemotherapy.** 2014. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

The association between periodontal disease and cancer has been recently established and the logic behind it is that inflammation is a common factor between both diseases, although all the involved mechanisms in this association have to be clarified. Furthermore, periodontal infection/inflammation may be aggravated during chemotherapy and contribute for systemic inflammatory process. **Objective:** This study compared the periodontal status in healthy and breast cancer patients before chemotherapy and monitored the effect of periodontal treatment in the clinical and systemic conditions. **Materials and Methods:** The subjects were allocated into four groups: healthy patients (H) (n = 16); cancer patients without periodontal disease (CAN) (n = 15); periodontally compromised patients (PC) (n = 18); and cancer and periodontally compromised patients (CAN-PC) (n = 10). The clinical parameters: probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), plaque index (PI) and gingival index (GI); the hematological parameters: C-reactive-protein (CRP) and neutrophils (PMN) were accessed at baseline, 45 and 90 days after non-surgical periodontal therapy. The differences intra and inter-groups were verified by the analysis of variance of two criteria followed by the Post-Hoc test of Bonferroni ($p < 0,05$) and for hematologic parameters were verified by the Friedman test and by the Mann-Whitney test ($p < 0,05$). **Results:** At baseline, there was no difference between the two periodontally healthy and the two periodontally compromised groups regarding the clinical parameters; there were no statistically significant differences for PCR; and PMN were statistically higher for the PC groups ($p \leq 0,05$). After the periodontal treatment there was a significant reduction ($p \leq 0,05$) of PD in the CAN group and in the PC group at 90 days post therapy comparing to baseline ($p \leq 0,05$). There was a significant reduction on the PI at 45 and 90 days for the H group, PC and CAN-PC groups ($p \leq 0,05$). All groups had a significant reduction on GI at 45 and 90 days after treatment ($p \leq 0,05$). However, this reduction was statistically more pronounced in the H group than in the CAN group ($p \leq 0,05$). At 90 days post periodontal treatment, the CAN-PC group exhibited a greater frequency of residual periodontal pockets ($p \leq 0,05$), less PD reduction ($p \leq 0,05$) and a greater risk of periodontitis progression ($p \leq 0,05$) than the PC patients. The PC and the CAN groups showed a statically significant reduction in PCR levels at 45 days ($p < 0,05$), furthermore the CAN group showed also statistically significant differences reduction in PCR levels at 90 days ($p < 0,05$). The PC group had a significant reduction in the PMN at 45 days when compared to baseline values. **Conclusion:** The results of this study have failed to detect the association between periodontal disease and cancer. The periodontal treatment reduces the inflammatory markers of gingivitis and periodontitis and the hematological markers, however, this reduction is more pronounced in patients without cancer, showing that the disease and/or the chemotherapy impair the inflammatory control.

Keywords: periodontal disease, breast cancer, chemotherapy, inflammatory markers

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Médias e desvios-padrão de PS, NCI, IP, IG, PCR e Neutrófilos nos grupos SAU, CAN, DP, CAN/DP no *baseline*. (*) Análise de Variância seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,05$. (**) Análise de Variância seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,01$. (***) Análise de Variância seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,001$ 46
- Figura 2– Médias da PS, NCI (mm), IP, IG (%), PCR (mg/dL) e Neutrófilos (%) nos grupos SAU, CAN, DP, CAN/DP no *baseline*, 45 e 90 dias após terapia periodontal (RAR e profilaxias supragengivais), bem como os resultados das comparações intra e intergrupos. *Diferença significativa quando comparado ao valor obtido no *baseline* (Análise de variância a dois critérios seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,05$) (A,B); *Diferença significativa quando comparado ao valor do *baseline* em um mesmo grupo experimental (Teste de Friedman, $p < 0,05$) (C,D); § Diferença significativa entre os grupos experimentais em um mesmo tempo de análise (Teste de Mann Whitney, $p < 0,05$) (D), *Diferença significativa quando comparado ao valor do *baseline* em um mesmo grupo experimental (Teste ANOVA $p < 0,05$ (E) e $p < 0,01$ (F)). 48
- Figura 3– Redução média da profundidade de sondagem (mm), percentual de bolsas nos grupos DP e CAN/DP e risco de progressão da doença periodontal ao nível do paciente, 90 dias após raspagem e alisamento radicular em relação aos valores obtidos no *baseline*. *Diferença significativa entre os grupos (Teste t não pareado, $p < 0,05$) (A,B). *Diferença significativa entre os grupos na categoria de baixo risco (Teste do Qui-Quadrado, $p < 0,05$) (C). 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAN: Câncer de mama

CAN-DP: Câncer de mama e doença periodontal

DP: Doença periodontal

FORP: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

FMRP: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

HCRP: Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto

IG: Índice gengival

IP: Índice de placa

IHO: Instrução de higiene oral

mm: Milímetro

mg/dL: Miligrama por decilitro

NCI: Nível clínico de inserção

n. dentes: Número de dentes

PS: Profundidade de sondagem

PCR: Proteína C-reativa

PMN: Neutrófilos

PHO: Programa de higiene oral

QT: Quimioterapia

SAU: Saudável

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SÍMBOLOS

%: Por cento

n: Tamanho da amostra

$\leq$: Menor ou igual

$\geq$: Maior ou igual

$>$: Maior

$<$: Menor

LISTA DE ANEXOS

LISTA DE ANEXOS

Anexo A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	68
Anexo B - Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FORP-USP	71
Anexo C - Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FMRP- Departamento de Ginecologia.....	72
Anexo D - Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP	73
Anexo E - Artigo científico submetido para publicação no periódico <i>Clinical Oral Investigation</i>	74

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	28
3 PROPOSIÇÃO	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Consentimento para a pesquisa.....	39
4.2 Seleção dos pacientes	39
4.3 Delineamento do estudo	40
4.4 Parâmetros clínicos periodontais	40
4.5 Calibração do examinador	41
4.6 Análises Laboratoriais	41
4.7 Terapia Periodontal.....	41
4.7.1 Terapia preventiva	41
4.7.2 Tratamento periodontal (R.A.R).....	42
4.7.3 Terapia Periodontal de suporte (TPS)	42
4.9 Análise estatística	42
5 RESULTADOS	45
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	68

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal foi associada com um pequeno, mas significativo, aumento no risco de câncer em geral, o que sugere que doença periodontal pode ser um indicador de um sistema imunológico suscetível ou talvez possa afetar diretamente o risco de câncer (MICHAUD et al., 2008).

A doença periodontal é uma doença inflamatória crônica e infecciosa dos tecidos de suporte dos dentes, que leva à destruição do osso e dos tecidos de inserção do ligamento periodontal, sendo a maior causa de perda dental nos adultos (SOSKLONE; KLINGER, 2001). Embora o fator etiológico primário da doença periodontal seja o biofilme dental, a resposta do hospedeiro e várias doenças sistêmicas parecem estar associadas com o seu desenvolvimento (WILLIAMS; OFFENBACHER, 2000; VAN DYKE et al., 2013). Nos últimos anos, estudos epidemiológicos demonstraram que infecções bucais associam-se com doenças sistêmicas como: doença cardiovascular (TONETTI et al., 2013; HOLTFRETER et al., 2013; JUNG et al., 2013), nascimento de bebês com baixo peso e parto prematuro (MADIANOSS et al., 2013; SANZ; KORNMAN, 2013), diabetes (ARORA et al., 2014; STANKO; IZAKOVICOVA, 2014) doenças respiratórias (BARROS et al., 2013) e artrite reumatoide (KHANTISOPON et al., 2014). Recentemente, uma associação entre doença periodontal e câncer foi proposta e a lógica dessa associação é que inflamação é um fator comum entre ambas doenças (HUJOEL, 2003; FITZPATRICK; KATZ, 2010). A inflamação causada por infecções parece ser uma das causas evitáveis mais importantes de câncer em seres humanos (KUPER et al., 2000; SODER, 2011). A resposta imunoinflamatória é o fator-chave tanto na periodontite quanto no câncer. No entanto, estudos científicos ainda desconhecem todos os mecanismos envolvidos nessa associação e tentam elucidá-los. Para Pendyala et al. (2013), a inter-relação entre inflamação e câncer pode ser explicada por duas vias consistentes: a primeira, é a via extrínseca, na qual um estado inflamatório constante contribui para o aumento do risco de câncer, e a segunda é a via intrínseca, em que alterações genéticas adquiridas levam ao desenvolvimento da neoplasia maligna.

Doença periodontal é iniciada por um biofilme bacteriano sobre a superfície dos dentes, que desencadeia uma resposta imunoinflamatória nos tecidos adjacentes do hospedeiro (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Isso pode ser explicado pelo fato de as bactérias periodontais apresentarem uma infinidade de fatores de virulência que induzem resposta inflamatória importante (KORNMAN; PAGE; TONETTI, 1997; ROSANIA et al., 2009; HUANG et al., 2011). Além disso, na dinâmica da doença periodontal, uma variedade de

citocinas e lipolissacarídeos são liberados para a corrente sanguínea e estas substâncias, ao atuarem nos hepatócitos, promovem a resposta da fase aguda com consequente produção de biomarcadores como proteína C-reativa (PCR), que por sua vez, se relaciona com alterações no endotélio vascular (NAVES, 2008).

Pacientes oncológicos submetidos ao tratamento quimioterápico apresentam efeitos colaterais na cavidade oral durante e depois do tratamento, podendo resultar em distúrbios na integridade e função das células normais. Entre as diversas alterações destacam-se disfunções nas glândulas salivares, causando hipossalivação e xerostomia, infecções (fúngicas, virais e bacterianas), especialmente herpes, úlceras neutropênicas, mucosite, hemorragias, alterações no paladar, patologias dentais, trismo, disfagia, lesões aftosas e doença periodontal (FRANCO DE CONNO, 1989; SINGH et al., 1996; KROETZ; CZULUSNIAK, 2003; MENDONÇA et al., 2005). Durante a quimioterapia, a gengiva pode ser afetada devido à estomatotoxicidade direta do tratamento quimioterápico, que induz à gengivite marginal (RUTKAUSKAS, 1993; KOSTLER et al., 2001), além de levar a complicações sistêmicas importantes como resultado da imunossupressão (HESPANHOL et al., 2010). Estudos têm mostrado que a infecção periodontal pode se agravar durante o tratamento do câncer devido à baixa imunidade, resultando em dor, infecção bucal e infecção sistêmica, já que a ulceração do epitélio do sulco não é mais controlada pelos mecanismos de defesa. A ulceração bucal em pacientes com neutropenia é uma ameaça à vida, pois serve de porta de entrada para bactérias, o que pode causar uma septicemia e, consequente, aumento da morbidade de pacientes neutropênicos (SONIS et al., 1996).

Diante do exposto, faz-se necessário entender a possível associação entre doença periodontal e câncer de mama e como o periodonto pode ser afetado durante o tratamento quimioterápico em mulheres com câncer de mama e saber se o tratamento periodontal pode melhorar as condições clínicas e sistêmicas das pacientes.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

INFLAMAÇÃO E CÂNCER

A relação entre inflamação e câncer tem sido amplamente discutida na literatura. Virchow (1863) foi o primeiro a observar que as células inflamatórias estão presentes no interior dos tumores, e estes tumores surgem em locais de inflamação crônica. Esta observação foi feita há mais de 150 anos e levou à conclusão de que a inflamação contribui significativamente para o desenvolvimento de câncer (SCHETTER et al., 2010). Dados recentes têm ampliado o conceito de que a inflamação é um componente crítico da progressão do tumor - muitos cânceres surgem de locais de infecção, irritação e inflamação crônica (KUPER et al., 2000; COUSSENS; WERB, 2002; MONTOVANI et al., 2008; ALLAVENA et al., 2008). Os papéis e as relações entre as duas vias no processo de desenvolvimento do câncer dependem das suas interações específicas com fatores genéticos, epigenéticos e fatores ambientais (SLATTERY et al., 2009; DEL PRETE et al., 2011; PENDYALA et al., 2013).

Há evidências de que inflamação crônica provocada por agentes bacterianos ou virais é um fator de risco para o câncer através de respostas inflamatórias locais e transformações cancerígenas (HUSSAIN; HARRIS, 2007; LIN; KARIN, 2007). Por exemplo, a infecção crônica pelo *Helicobacter pylori* é associada ao câncer gástrico, doença inflamatória intestinal e câncer colorretal (MANTOVANI, 2010). Cirrose hepática alcoólica, infecções por hepatite B e C levam à inflamação crônica do fígado e são responsáveis pela maioria dos carcinomas hepatocelulares em todo o mundo, assim como outras doenças inflamatórias intestinais, como, por exemplo, a doença de Crohn e a colite ulcerativa, que são associadas ao aumento das taxas de adenocarcinoma de cólon (SCHETTER et al., 2010).

Além disso, existem mecanismos moleculares de inflamação crônica envolvidos na carcinogênese, que são os mediadores inflamatórios comuns, incluindo citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), ciclooxigenase-2 (COX-2) e o fator nuclear Kappa (FN-kB), os quais podem conduzir a condições celulares favoráveis para a promoção do tumor (SCHETTER et al., 2010). Todas estas substâncias podem atuar favorecendo vários fatores-chave na carcinogênese. Com a inflamação, ocorre um aumento da proliferação celular e a mutagênese, reduzindo assim a adaptação ao estresse oxidativo, promovendo a angiogênese, inibindo a apoptose e aumentando a liberação de mediadores inflamatórios (MICHAUD et al., 2007).

As citocinas são moléculas de sinalização que participam dos processos inflamatórios e imunológicos. Estas tem uma ampla variedade de funções celulares e são estimuladas

quando a homeostase do tecido é alterada. As citocinas podem ser geralmente classificadas como pró-inflamatórias (incluindo IL-1, IL-6, IL-15, IL-17, IL-23 e TNF- α) ou anti-inflamatórias (incluindo IL-4, IL-10, IL-13), fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e o interferon (IFN- α). Dependendo do equilíbrio das citocinas, o seu efeito coletivo pode ser pró ou anti-tumorigênico (SCHETTER et al., 2010). Em geral, a exposição prolongada a níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias é considerada ser pró-tumorigênica (COUSSEN; ZENA, 2002). Por exemplo, o TNF- α é uma citocina pró-inflamatória para o qual existe uma evidência convincente que está associada com a promoção do tumor. Clinicamente, as concentrações séricas elevadas e o aumento da expressão de TNF- α estão presentes em várias doenças pré-neoplásicas e malignas, em comparação aos tecidos e sangue de indivíduos saudáveis. Evidências sugerem que TNF- α pode regular o processo de crescimento e progressão do tumor e a sua inibição pode ajudar em novas condutas terapêuticas contra o câncer (SZLOSAREK, 2006; SCHETTER et al., 2010).

As quimiocinas e outros componentes solúveis são elementos fundamentais da inflamação e também se relacionam com o câncer (ALLAVENA et al., 2011). Estas são inicialmente definidas como fatores que regulam a migração direcional dos leucócitos durante os estágios da inflamação. A inflamação crônica predispõe à formação e progressão do câncer e é provável que as quimiocinas tenham um papel neste processo. Elas são, geralmente, responsáveis pela indução e pelo acúmulo local de células inflamatórias e desempenham o mesmo papel na formação de infiltrados peri e intra-tumorais. Em parte, isso pode ser uma consequência de sua capacidade de atrair células mononucleares para o tumor, onde elas promovem o seu crescimento ou até de fatores angiogênicos que estimulam seu desenvolvimento. As células tumorais que secretam ou respondem às quimiocinas teriam uma vantagem seletiva. Isto reforça a habilidade do câncer de cooptar com o sistema do hospedeiro, a fim de promover a progressão do tumor (ROSSI; ZLOTNIK, 2000; BARRETT; ROLLINS, 2006).

Mecanismos da carcinogênese podem ser distintos de acordo com o órgão acometido, por exemplo, as bactérias podem desempenhar um papel mais direto na carcinogênese na boca ou pulmão, enquanto que em órgãos mais distantes, a inflamação sistêmica é influenciada por espécies reativas de oxigênio (ERO) que desempenham um papel mais importante (PENDYALA et al., 2013). Espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio (ERN) são radicais altamente reativos. Estes radicais têm um papel importante na atividade microbicida da resposta imune inata. Em resposta a um estímulo, células fagocíticas liberam ERO e células não-fagocíticas são estimuladas para produzir ERN por citocinas pró-

inflamatórias. A regulação adequada de ERO é vital para uma resposta imune eficiente e para limitar o dano tecidual (HUSSAIN et al., 2009; SCHETTER et al., 2010). Os estudos indicam que o perfil molecular e celular do câncer associados à inflamação afetam o prognóstico e podem identificar novos alvos terapêuticos, embora já existam experiências positivas em alguns tumores com tratamento anti-inflamatório (HUSSAIN et al., 2009; SHEN et al., 2009; SCHETTER et al., 2010; PENDYALA et al., 2013).

INFLAMAÇÃO E DOENÇA PERIODONTAL

A Doença Periodontal (DP) é uma doença inflamatória crônica que afeta os tecidos de suporte dos dentes e pode levar à perda dentária. A forma mais comum, também chamada de periodontite, atinge de 35% a 60% da população adulta, enquanto que suas formas severas afetam de 10% a 15% da população (OLIVER et al., 1998). A DP é iniciada por bactérias patogênicas e sua progressão é sinalizada por uma mudança na composição bacteriana do biofilme dental, de bactérias gram-positivas para bactérias periodontopatogênicas. Essas bactérias, em sua maioria anaeróbias gram-negativas, produzem uma série de fatores de virulência (KORNMAN; PAGE; TONETTI, 1997; ROSANIA et al., 2009; HUANG et al., 2011) que, por sua vez, vão induzir significativamente a cascata inflamatória. É, também, importante notar que a inflamação geralmente não se limita apenas aos tecidos periodontais. As bactérias e os mediadores inflamatórios tais como a IL-1 β , IL-6, TNF- α e PGE 2, podem se disseminar sistemicamente tendo um impacto mensurável em nível sistêmico, como a indução da disfunção endotelial (WILLIAMS; OFFENBACHER, 2000; VAN DYKE et al., 2013).

Zhao et al. (2011) reforçaram também que a maior destruição do tecido periodontal é o resultado de uma série de reações inflamatórias em resposta aos microrganismos. Os componentes bacterianos como lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias gram-negativas, e endotoxinas são capazes de desencadear uma forte resposta inflamatória sistêmica. Em resposta à bacteremia e aos antígenos bacterianos que são dispersos sistemicamente, há um aumento nos níveis de marcadores inflamatórios – comuns a várias doenças que partilham semelhantes reações imunes, incluindo as citocinas pró-inflamatórias que induzem leucocitose e proteínas da fase aguda, como a proteína C-reativa. Além disso, reagentes da fase aguda como proteína amilóide, fibrinogênio, inibidor do ativador do plasminogênio-1, proteínas do complemento são implicados nas condições sistêmicas ligadas à periodontite (LOSS BG, 2005; NAVES, 2008; VAN DYKE et al., 2013). Com a exposição continuada aos agentes

inflamatórios, antígenos solúveis reagem com anticorpos específicos circulantes para formar complexos imunes que amplificam mais ainda a inflamação (VAN DYKE et al., 2013).

PAPEL DO TRATAMENTO PERIODONTAL NA DIMINUIÇÃO DE MARCADORES DE INFLAMAÇÃO CLÍNICOS E SISTÊMICOS

Evidências sugerem que doença periodontal pode causar um potencial aumento na inflamação sistêmica, e que o tratamento periodontal está associado com alterações subsequentes nos níveis de marcadores inflamatórios tais como Proteína C-reativa (PCR), e a contagem de glóbulos brancos no sangue, principalmente leucócitos (RADAFSHAR et al., 2009; ALTAY et al., 2013). Isso sugere que mudanças induzidas por terapias periodontais nos marcadores inflamatórios podem reduzir a inflamação sistêmica e o risco de outras doenças sistêmicas (MATILA et al., 2002; D'AIUTO et al., 2004).

A proteína C-reativa (PCR) é um marcador sistêmico inflamatório liberado durante a fase aguda e é um marcador prognóstico para a doença cardiovascular, e que tem níveis séricos elevados durante a doença periodontal (ARCHANA et al., 2014). Além das doenças cardiovasculares, a PCR apresenta associações com tabagismo, obesidade, consumo de cafeína, diabetes, idade, entre outros (GOMES FILHO et al., 2011). Indivíduos com doença periodontal particularmente colonizados por bactérias gram-negativas como *Prevotella intermédia* (Pi), *Tannerella forsythensis* (Tf), *Porphyromonas gingivallis* (Pg), *Campylobacter rectus* (Cr), apresentam níveis elevados de proteína C-reativa, IL-6 e fibrinogênio quando comparados com indivíduos controles sem doença periodontal (NOACK et al., 2001).

Gani et al. (2012) realizaram um estudo com o objetivo de investigar os níveis de marcadores inflamatórios sistêmicos da doença cardiovascular, utilizando como biomarcadores a proteína C-reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6) e contagem total de leucócitos em pacientes com periodontite crônica em comparação com indivíduos saudáveis sem doença periodontal. Os autores observaram que os grupos com DP obtiveram maiores níveis de PCR, IL-6 e maior contagem de neutrófilos em comparação ao grupo saudáveis - níveis elevados desses marcadores podem representar risco aumentado de eventos cardiovasculares.

A partir da evidência de que DP tem influência sobre os níveis de PCR (GEORGE; JANAM, 2013), surgiu interesse de verificar se o tratamento periodontal poderia influenciar os níveis de PCR. Quando se comparam os marcadores de inflamação crônica em indivíduos sem doença periodontal e pacientes com DP, observa-se que a terapia periodontal diminui os

marcadores inflamatórios da doença após 3 meses do tratamento (MARCACCINI et al., 2009; GEORGE; JANAM, 2013).

O desafio sistêmico às toxinas bacterianas decorrentes das lesões periodontais representa um elo importante entre a periodontite, a resposta inflamatória de monócitos e desregulação metabólica em certos estados de doença. A exposição a infecções periodontais tem sido postulada como perpetuador de vários eventos inflamatórios, principalmente na doença arterial coronariana (DAC). Bacteremia de baixo grau nos pacientes afetados por periodontite, parece causar efeitos sistêmicos sobre a fisiologia vascular (CHATURVEDI et al., 2014).

PLAUSIBILIDADE BIOLÓGICA DA ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E CÂNCER

Os microrganismos são a principal causa de doenças infecciosas, além disso, novas evidências apontam que estes microrganismos são também indiretamente responsáveis por diversas doenças, incluindo o câncer. A cavidade oral contém milhões de bactérias que causam as duas principais doenças bucais, a doença periodontal e a cárie (KUMAR, 2013; YIPING WENG HAN, 2014). O papel da microbiota oral é muito importante, já que pode desencadear mecanismos cancerígenos em nível celular, que podem participar do metabolismo de substâncias cancerígenas, como, por exemplo, o metabolismo microbiano do álcool para acetaldeído cancerígeno, explicando, assim, a evidência epidemiológica entre beber muito, tabagismo, e desenvolvimento de câncer, como também a falta de higiene bucal tem sido associada a um aumento de risco de câncer oral e gastrointestinal (JUKKA; MEURMAN, 2010) pela formação de nitrosaminas endógenas na cavidade oral por bactérias redutoras de nitrato que é promovida pela falta de higiene oral e doença periodontal, bem como pelo uso do tabaco e certos fatores nutricionais. A perda do dente resultante da má higiene bucal também pode contribuir para uma maior produção de nitrosaminas (MEYER, 2008).

O *Fusobacterium nucleatum*, um microrganismo prevalente em sítios subgengivais, associado a doença periodontal, tem sido encontrada como espécie predominante associada ao câncer colorretal (YIPING WENG HAN, 2014). *Porphyromonas gingivallis* também pode desempenhar um papel na carcinogênese do pâncreas, já que as bactérias podem afetar a resposta imune do hospedeiro e causar respostas inflamatórias, que podem promover a carcinogênese (MICHAUD, 2013). Assim, os microrganismos obtêm acesso a corrente sanguínea e se espalham localmente nos tecidos adjacentes, liberando citocinas e outros

mediadores inflamatórios que afetam as vias metabólicas complexas e podem, assim, ser envolvidos na carcinogênese (RAJEEV et al., 2012; JUKKA; MEURMAN, 2010). Além disso, a doença periodontal pode contribuir para o estabelecimento de uma condição inflamatória sistêmica em indivíduos geneticamente suscetíveis, conhecidos como "fenótipo hiper-inflamatório", potencialmente envolvendo o aumento da produção de marcadores inflamatórios relacionados ao sistema imunológico (VAN KEMPEN et al., 2006; PENDYALA et al., 2013).

Fitzpatrick e Katz (2010) realizaram uma revisão da literatura e verificaram a relação entre a doença periodontal ou perda dentária em humanos e aumento do risco de vários tipos de câncer, em estudos feitos entre 1990 e abril de 2009 e concluíram que doença periodontal e câncer têm uma correlação positiva.

Söder et al. (2011) avaliaram a associação entre doença periodontal e a incidência de câncer de mama, através de um estudo prospectivo de 15 anos com 3273 indivíduos, e encontraram maior incidência do câncer de mama nos pacientes que tinham doença periodontal e algum dente molar perdido na mandíbula, sendo essa associação estatisticamente significativa.

Tanwir et al. (2012), na linha de investigação que a infecção crônica e a inflamação persistente são ligadas ao aumento do risco de câncer, relatam que parece existir associação entre doença periodontal e perda de dentes na progressão de vários tipos de câncer, independente dos fatores de risco conhecidos, como álcool e tabaco. Porém, destacam que exodontia não é devido apenas a periodontite, apesar desta representar valor significativo de 30-35% das causas de perda dental, necessitando assim, de estudos futuros para esclarecer os exatos mecanismos envolvidos nessa relação.

Desta maneira, a doença periodontal pode ser um indicador útil de um sistema imune susceptível, que pode afetar diretamente o risco de câncer com um perfil inflamatório pró-oxidante e que pode ter implicações até a progressão do crescimento do tumor (MICHAUD et al., 2008; MEYER, 2008; SOORY, 2010).

EFEITOS DA QUIMIOTERAPIA NO PERIODONTO

As neoplasias são a segunda causa de morte por doença no mundo e cerca de 70% dos pacientes receberam quimioterapia no decorrer do tratamento (HESPANHOLLO et al., 2010). As drogas quimioterápicas, frequentemente, induzem efeitos colaterais nas células da cavidade bucal e podem levar a complicações sistêmicas importantes (SINGH et al., 1996; MEALEY, 1996 AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1997; KROETZ;

CZLUSNIAK, 2003; ZERAICK et al., 2005), já que estas não diferenciam as células neoplásicas das células normais e, como consequência, provocam mucosite, infecções fúngicas, bacterianas, virais e xerostomia transitória, cessando logo após o término do tratamento (DE CONNO et al., 1989; SINGH et al., 1996; KROETZ; CZLUSNIAK, 2003).

A mucosite é uma lesão que com frequência se desenvolve em até sete dias após o início da quimioterapia, podendo durar inclusive semanas (MEALEY, 1996; PICO, 1998), e esta pode resultar da mielossupressão e toxicidade direta, caracterizada pela inflamação e ulceração da mucosa oral, que se torna edemaciada, eritematosa, resultando em dor, desconforto, disfagia e debilidade sistêmica (KROETZ; CZLUSNIAK, 2003; HESPANHOLO et al., 2010). Devido à neutropenia decorrente do tratamento, infecções por microrganismos oportunistas como *Candida albicans*, vírus Herpes Simples (HSV), citomegalovírus e varicela zoster são frequentes e tendem a potencializar os sinais e sintomas (DURLACHER et al., 2002).

Por outro lado, a quimioterapia pode produzir alterações na saúde periodontal, alterações no paladar, distúrbios na formação dos germes dentários e trismo muscular (DE CONNO et al., 1989; SINGH et al., 1996; KROETZ; CZLUSNIAK, 2003; STOLZ et al., 2011). Infecções periodontais podem ser associadas com inflamação gengival, marcada sensibilidade e dor durante a neutropenia. Além disso, talvez o mais importante, em pacientes com periodontite severa, a infecção periodontal seja localizada em partes mais profundas do periodonto (DURLACHER et al., 2002). O periodonto infectado pode agir como um foco de infecção sistêmica que serve de entrada para bactérias Gram-negativas como *Capnocytophaga* e *Fusobacterium nucleatum*. A incidência destas infecções orais é desconhecida, mas provavelmente subestimada (EPSTEIN; MOORE, 2001; DURLACHER et al., 2002).

A doença periodontal deve ser avaliada e gerenciada antes do tratamento médico de câncer (EPSTEIN; CHOW, 1999). A avaliação e pré-tratamento junto com a manutenção da higiene oral têm se demonstrado eficaz na prevenção de complicações orais e sistêmicas, a fim de intervir em uma fase inicial e minimizar as complicações orofaciais, quando o tratamento é mais fácil e eficaz (SINGH, 1996 EPSTEIN; MOORE, 2001). Assim também, a prevenção da ruptura da mucosa, a supressão da colonização microbiana, controle de reativação viral, e um controle de xerostomia severa são passos críticos para reduzir a morbidade e mortalidade das pacientes com infecções bucais (EPSTEIN & CHOW, 1999). Além disso, futuramente o tratamento da doença maligna pode ter um efeito significativo sobre opções de tratamento odontológico (EPSTEIN; MOORE, 2001).

Sonis et al. (1996) elaboraram um protocolo clínico para prevenir as complicações bucais, dando as seguintes orientações: profilaxia, raspagem e polimento radicular, instruções de higiene bucal, dieta pobre em sacarose, bochechos com soluções fluoretadas, prescrição de gel de fluoreto para uso diário nas moldeiras (preferencialmente neutro), eliminação de cáries ativas e fontes potenciais de irritação, como grampos fraturados, próteses mal adaptadas ou bandas ortodônticas, exame e profilaxia frequentes.

Epstein e Moore (2001) fizeram uma revisão da literatura e concluíram que exame oral e periodontal completo são apropriados para todos os pacientes com câncer de cabeça e pescoço que receberão radioterapia. Tanto a radioterapia como a quimioterapia não diferenciam as células neoplásicas das células normais, isto leva à destruição de células que estão se dividindo normalmente como é comum nas células da cavidade e da mucosa oral (KROETS; CZLUSNIAK, 2003).

Amodio et al. (2014), em um estudo transversal, avaliaram o efeito do câncer de mama e de seu tratamento na saúde oral, em 48 mulheres com câncer de mama comparadas com 48 mulheres sem histórico de câncer. Onde foram avaliados os parâmetros de profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, sangramento a sondagem e índice de placa. Foi observado que o tratamento oncológico associado às mudanças orais durante a menopausa e a condição de higiene oral das pacientes podem ser responsáveis pelo agravamento da condição periodontal das mesmas.

Dessa forma, há necessidade do estabelecimento de um protocolo no atendimento odontológico que abranja diversas medidas profiláticas, adequando a cavidade bucal antes de iniciar as terapias anti-neoplásicas, com finalidade de melhorar a resposta imunoinflamatória e a qualidade de vida da paciente (HESPANHOLLO et al., 2010).

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Objetivo Geral

- ✓ Avaliar as condições periodontais em mulheres com câncer de mama, antes e durante o tratamento quimioterápico, e monitorar o efeito do tratamento periodontal nas condições clínicas e sistêmicas dessas pacientes.

Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar parâmetros clínicos (índice de placa, profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e índice gengival) antes e após do tratamento periodontal.
- ✓ Avaliar o número de bolsas periodontais residuais, bem como o percentual de risco para a progressão da doença periodontal (baixo, moderado ou alto) nos grupos com câncer (CAN) e sem câncer (SAU) aos 90 dias após raspagem e alisamento radicular.
- ✓ Avaliar os níveis da Proteína C-reativa presentes no sangue periférico antes e após tratamento periodontal.
- ✓ Avaliar os níveis de neutrófilos presentes no sangue periférico antes e após tratamento periodontal.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Consentimento para a pesquisa

Todas as pacientes participantes foram informadas detalhadamente sobre a natureza do estudo proposto (objetivos, benefícios, riscos e desconfortos), e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, certificando sua concordância (Anexo A). Esse estudo foi conduzido em conjunto com o Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia e o Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto - Departamento de Ginecologia. Foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana (protocolo nº: 03121212.6.3001.5440) da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Departamento de Ginecologia (Protocolo nº 52/2012) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas (Resolução CNS 196/96).

4.2 Seleção dos pacientes

Os indivíduos foram submetidos à anamnese, exame clínico e radiográfico. As pacientes com câncer de mama foram diagnosticadas pelo setor ambulatorial de ginecologia – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. De acordo com a condição periodontal e padrão geral de saúde, as pacientes foram incluídas no estudo.

Os critérios de inclusão foram: (i) presença de pelo menos 15 dentes, excluindo-se dentes indicados para exodontia; (ii) presença de 6 dentes com profundidade de sondagem (PS) ≥ 5 mm e perda de inserção ≥ 5 mm para o grupo com doença periodontal (ARMITAGE, 1999); (iii) presença de profundidade de sondagem ≤ 3 mm; (iv) índice de placa e sangramento $\leq 20\%$ para o grupo saudável (SAU). Os Critérios de exclusão foram: (i) história positiva de tratamento periodontal nos últimos seis meses; (ii) diabetes; (iii) envolvimento protéticos extensos; (iv) necessidade de profilaxia antibiótica para a realização de procedimentos odontológicos de rotina; (v) uso de anti-inflamatórios por longo período de tempo, ou qualquer medicamento que possa interferir nos aspectos periodontais; (vi) tabagismo; (vii) gravidez; (viii) pacientes que desistiram do tratamento ou que estivessem impossibilitadas de comparecer aos agendamentos.

4.3 Delineamento do estudo

Antes de começar, as pacientes selecionadas foram alocadas nos seguintes grupos experimentais: pacientes com câncer e sem doença periodontal que receberam terapia periodontal preventiva (CAN) (n=15); pacientes com câncer e com doença periodontal que receberam tratamento periodontal (CAN + DP) (n=10); pacientes controles saudáveis tanto do ponto de vista sistêmico quanto periodontal (SAU) (n=16); e pacientes que não tinham câncer, porém que tinham doença periodontal e, portanto, receberam tratamento periodontal (DP) (n=18).

Os parâmetros clínicos periodontais e laboratoriais foram avaliados no *baseline* (período pré-intervenção e quimioterapia) e após a realização da terapia periodontal (Pós-intervenção). Os exames clínicos periodontais (pré e pós-intervenção) foram realizados por um único examinador devidamente treinado e calibrado utilizando a sonda eletrônica computadorizada de pressão controlada (Florida Probe Corporation, Gainesville, FL, U.S.A.), sendo registradas no baseline, aos 45 dias e 90 dias.

4.4 Parâmetros clínicos periodontais

Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados:

Índice de Placa (IP) dicotômico (O'LEARY et al, 1972) foi determinado pela presença ou ausência de biofilme na margem gengival em 4 faces de cada dente – e expresso em porcentagem de faces com biofilme.

Índice Gengival (IG) dicotômico (AINAMO E BAY, 1975) foi determinado pela presença ou ausência de sangramento à sondagem em quatro faces de cada dente - expresso em porcentagem de faces com sangramento.

Profundidade de Sondagem (PS), foi medida a partir da margem gengival até o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal.

Nível Clínico de Inserção (NCI), foi mensurada a partir da junção cimento-esmalte até a porção mais apical do sulco/bolsa periodontal. PS e NCI foram medidas em seis sítios por dente, três sítios por vestibular e três sítios por lingual ou palatino. Todas as medidas foram feitas com o auxílio da sonda computadorizada (Florida Probe Corporation, Gainesville, FL, U.S.A.).

4.5 Calibração do examinador

Foram selecionados 10 pacientes, com pelo menos 2 pares de dentes uniradiculares contralaterais com profundidade de sondagem ≥ 5 mm nos sítios proximais. Cada paciente foi examinado duas vezes por meio de sonda periodontal computadorizada (Florida Probe Corporation, Gainesville, FL, EUA), com um intervalo de 48 horas entre o primeiro e segundo exame. O examinador foi considerado calibrado quando o percentual de concordância entre as medidas repetidas, admitindo-se a variação máxima de 1 mm, foi maior ou igual a 90%. O coeficiente de correlação intra-classe foi utilizado para assegurar a calibração do examinador.

4.6 Análises Laboratoriais

As amostras de sangue periférico para análise dos marcadores inflamatórios foram tomadas através de punção venosa, no *baseline*, aos +45 dias, +90 dias após tratamento periodontal e foram analisadas no Centro Clínico de Pesquisa do HC: proteína C- reativa (CPR) e neutrófilos (PMN). Os níveis de PCR do soro foram avaliados pelo método de turbidimetria.

4.7 Terapia Periodontal

As pacientes foram agrupadas de acordo com suas necessidades e foram colocadas em um programa de higiene oral (PHO). As pacientes com câncer e sem doença periodontal receberam terapia preventiva e as pacientes com doença periodontal com ou sem câncer receberam tratamento periodontal na Clínica de Pós-graduação da FORP-USP.

4.7.1 Terapia preventiva

Após a coleta dos dados iniciais, as pacientes do grupo saudáveis sem comprometimento periodontal (SAU e CAN) receberam tratamento periodontal preventivo. As pacientes receberam instruções para um efetivo controle de placa bacteriana, incluindo instrução de higiene oral, escovação sobre a técnica de Bass (1954), assim como receberam instruções de limpeza interproximal com fio dental e escovas interdentais. Elas, também, foram motivadas a escovar o dorso da língua uma vez ao dia. Logo em seguida, as pacientes

receberam raspagem supragengival (ultrassom), profilaxia e/ou polimento coronário com taças de borracha em todos os elementos dentários presentes na cavidade bucal.

Todas as pacientes do grupo controle retornaram a cada 30 dias para um controle do biofilme, feito por meio de profilaxia e polimento com taças de borracha.

4.7.2 Tratamento periodontal (R.A.R)

O tratamento periodontal foi iniciado 7 dias após a execução de instrução de higiene oral (IHO) e da raspagem supragengival inicial. O tratamento foi realizado por um especialista em Periodontia, em um intervalo de 24 horas, por meio de raspagem (supragengival e subgengival) e alisamento radicular de todos os elementos dentários com comprometimento periodontal, com a utilização de instrumentos manuais (curetas de Gracey; Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, IL, EUA), aparelhos ultra-sônicos (Bob-Cat, Dentsply/Cavitron, Long Island City, NY, EUA) e, quando necessário brocas multilaminadas para acabamento e polimento das superfícies dentárias, sob anestesia local. A instrumentação envolveu quadrante por quadrante, até adequada instrumentação da área e alisamento radicular que foram verificados com auxílio de uma sonda exploradora.

4.7.3 Terapia Periodontal de suporte (TPS)

As pacientes receberam procedimentos para o controle do biofilme dental, raspagem e alisamento radicular com curetas manuais nos sítios com PS maior ou igual a 4 mm que ainda apresentassem sangramento. Os procedimentos para controle do biofilme dental consistiram em reforço de higiene oral, profilaxia e polimento dental.

4.9 Análise estatística

Parâmetros clínicos

Em cada paciente, foi calculada a média $\pm$ desvio-padrão de PS, NCI, IP, IG e a unidade experimental foi o indivíduo. As diferenças inter-grupos no *baseline* foram verificadas pela análise de variância seguida pelo teste *Post-Hoc* de Bonferroni ($p < 0,05$), para a análise dos tempos experimentais (*baseline*, +45 e +90 dias), bem como as diferenças inter e intragrupos de PS e NCI foram avaliadas pela análise de variância a dois critérios seguida pelo teste *Post-Hoc* de Bonferroni ($p < 0,05$). O IG e IP foram verificados pelo teste de

Friedman ($p < 0,05$), respectivamente. Os dados de “redução média de PS”, “bolsas residuais” e “risco de progressão da doença” foram também apresentados como frequências absolutas e relativas. As diferenças inter e intragrupos foram avaliados pelo Teste t não-pareado e pelo teste Qui-Quadrado.

Parâmetros hematológicos

Para análise dos parâmetros hematológicos (PCR e neutrófilos), os dados foram apresentados como médias e desvios-padrão e foram verificados pela análise de variância seguida pelo teste *Post-Hoc* de Bonferroni ($p < 0,05$). As diferenças intra e inter-grupos como a análise dos tempos (+45 e +90) para a PCR foram avaliadas pelo teste ANOVA ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Foram triadas 122 pacientes no ambulatório de Ginecologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, embora só 25 pacientes se encaixaram nos critérios de inclusão, as outras pacientes foram excluídas do estudo pelas seguintes razões: não apresentavam o mínimo de dentes determinado no projeto (15 dentes), apresentavam envoltórios protéticos extensos ou prótese total, diabetes, hipertensão e outras estavam impossibilitadas de comparecer aos agendamentos por ter idade avançada.

Os parâmetros clínicos e os parâmetros hematológicos foram avaliados em 59 pacientes: 16 saudáveis (SAU), 18 pacientes com doença periodontal (DP), 15 pacientes com câncer e sem doença periodontal (CAN) e 10 pacientes com câncer e com doença periodontal (CAN-DP). As idades das pacientes foram semelhantes, com mediana de $47,65 \pm 1,83$. As pacientes incluídas na análise tinham mais de 20 dentes, com mediana de $25,17 \pm 1,27$.

Os resultados das comparações intergrupos obtidos no *baseline*, evidenciaram que os grupos com doença periodontal apresentavam maiores médias e desvios-padrão em profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI), Índice de placa (IP) ($p < 0,01$) e Índice gengival (IG) ($p < 0,001$), não sendo o câncer um fator que prejudicava ainda mais o estado periodontal dessas pacientes. Os níveis de proteína C reativa (PCR) não foram diferentes estatisticamente para nenhum dos grupos analisados ($p > 0,05$), enquanto o número de neutrófilos foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) no grupo sem câncer apresentando doença periodontal (DP) do que nos outros grupos, inclusive no grupo com câncer e doença periodontal (Figura1).

Figura 1. Médias e desvios-padrão de PS, NCI, IP, IG, PCR e Neutrófilos nos grupos SAU, CAN, DP, CAN/DP no baseline (*) Análise de Variância seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,05$; (**) Análise de Variância seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,01$, (***) Análise de Variância seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,001$.

Os valores das medidas de PS, NCI, IG e IP para os grupos CAN, SAU, DP e CAN-DP, no *baseline*, 45 e 90 dias após tratamento periodontal (raspagem e alisamento radicular e profilaxias) estão apresentados na Figura 2. Aos 90 dias em relação aos valores obtidos no *baseline* houve uma redução significativa na PS no grupo sem doença periodontal e com câncer (CAN) e no grupo com doença periodontal e sem câncer (DP) ($p < 0,05$). Em relação ao NCI, o grupo sem câncer e com doença periodontal (DP) exibiu um ganho de inserção clínica estatisticamente significativo aos 45 e 90 dias em relação ao valor obtido no *baseline* ($p < 0,05$), ainda que não clinicamente relevante (Figura 2.A e 2.B).

Nas comparações intragrupos, houve uma redução significativa nos percentuais de placa para todos os grupos. No entanto, para o grupo com câncer e sem doença periodontal (CAN) essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Quanto ao percentual de índice gengival foi observada uma redução significativa em todos os grupos analisados tanto aos 45 quanto aos 90 dias em relação ao *baseline* ($p < 0,05$). No entanto, aos 90 dias foi observado um índice gengival estatisticamente maior nas pacientes com câncer e sem doença periodontal (CAN) do que as saudáveis (SAU) ($p < 0,05$) (Figura 2.C e 2.D).

Em relação aos níveis de proteína C-reativa houve uma redução aos 45 dias, que foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) para os grupos DP e CAN, embora aos 90 dias em relação aos valores obtidos no *baseline*, foi observada uma diferença estatisticamente significativa para o grupo CAN ($p \leq 0,05$). Para os outros grupos (CAN-DP, SAU) não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas.

Quanto às mudanças nos níveis de neutrófilos aos 45 e 90 dias após terapia periodontal, pôde-se constatar que o grupo DP apresentou uma redução percentual significativamente menor aos 45 dias quando comparado ao valor obtido no *baseline* ($p \leq 0,01$). Enquanto nos grupos não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) (Figura 2.E e 2.F).

Figura 2. Médias da PS, NCI (mm), IP, IG (%), PCR (mg/dL) e Neutrófilos (%) nos grupos SAU, CAN, DP, CAN/DP no *baseline* e 45 e 90 dias após terapia periodontal (RAR e profilaxias supragengivais), bem como os resultados das comparações intra e intergrupos. * Diferença significativa quando comparado ao valor obtido no *baseline* (Análise de variância a dois critérios seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0,05$ (A,B); * Diferença significativa quando comparado ao valor do *baseline* em um mesmo grupo experimental (Teste de Friedman, $p < 0,05$) (C,D); § Diferença significativa entre os grupos experimentais em um mesmo tempo de análise (Teste de Mann Whitney, $p < 0,05$) (D), * Diferença significativa quando comparado ao valor do *baseline* em um mesmo grupo experimental (Teste Anova $p < 0,05$ (E) e $p < 0,01$ (F))

Quando avaliados apenas os grupos com doença periodontal, com ou sem câncer (DP e CAN-DP) após 90 dias do tratamento periodontal não cirúrgico (RAR) percebe-se que o grupo com câncer, ou seja, o grupo que passou por quimioterapia (CAN-DP), experimentou menor redução na profundidade de sondagem em comparação ao grupo que não recebeu a quimioterapia (DP) ($p<0,05$). Também aos noventa dias percebe-se que o grupo com câncer exibe uma maior frequência de bolsas residuais em relação ao grupo DP ($p<0,05$). Analisando, ainda aos 90 dias, o percentual do risco de progressão da doença periodontal em função das profundidades de sondagens residuais, observou-se que as pacientes do grupo (DP) apresentaram 100% baixo risco de progressão da doença periodontal, enquanto no grupo (CAN-DP) 60% das pacientes foram classificadas na categoria de baixo risco, 30% apresentaram moderado risco e 10% apresentaram alto risco de progressão da doença (Figura 3).

Figura 3. Redução média da profundidade de sondagem (mm), percentual de bolsas nos grupos DP e CAN/DP e risco de progressão da doença periodontal ao nível do paciente, 90 dias após raspagem e alisamento radicular em relação aos valores obtidos no *baseline*. * Diferença significativa entre os grupos (Teste t não pareado, $p < 0,05$) (A,B), * Diferença significativa entre os grupos na categoria de baixo risco (Teste do Qui-Quadrado, $p < 0,05$) (C).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A hipótese proposta para a relação entre doença periodontal e câncer inclui a inflamação sistêmica ou aumento das concentrações dos compostos cancerígenos como resultado de bactérias periodontopatogênicas da cavidade oral que poderiam estar envolvidas no desenvolvimento do câncer (MEYER et al., 2008). Há evidência de que condições periodontais pré-existentes podem se agravar durante o tratamento antineoplásico e que, preferencialmente, os pacientes devem ter suas condições periodontais tratadas antes do início da terapia oncológica (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 1990; EPSTEIN & CHOW, 1999; EPSTEIN; MOORE, 2001; DURLACHER et al., 2002; KROETZ; CZLUSNIAK, 2003). Os dados de nosso estudo fornecem informações preliminares de como o periodonto é afetado durante o tratamento quimioterápico em pacientes com câncer de mama e de como o tratamento periodontal repercute nas condições inflamatórias clínicas e sistêmicas dessas pacientes.

A análise dos parâmetros clínicos deste estudo no *baseline* demonstrou que pacientes com e sem câncer exibiam os mesmos níveis de problemas periodontais, sejam eles gengivite ou periodontite. Da mesma forma, os parâmetros hematológicos foram semelhantes para todos os grupos experimentais. Nossos achados estão de acordo com Matila et al. (2002), em relação aos pacientes com doença periodontal, sem câncer. Outros estudos demonstraram que pacientes com doença periodontal tem níveis elevados de PCR no início, antes do tratamento periodontal (EBERSOLE et al., 1996; LOSS et al., 2000; D'AIUTO et al., 2004; GOMES FILHO et al., 2011). No entanto, é perfeitamente plausível que alguns indivíduos que tenham algum tipo de susceptibilidade genética para a hiperatividade inflamatória podem apresentar predisposição a alterações nos níveis de proteínas da fase aguda (GOMES FILHO et al., 2011).

Por outro lado, níveis séricos elevados de PCR estão associados positivamente com câncer de mama, predominantemente em mulheres com excesso de peso e na pós-menopausa (HONG et al., 2013). Em uma meta-análise de estudos prospectivos Guo et al. (2013), abordaram a associação entre PCR e o risco de câncer. Os resultados desta meta-análise mostraram que os níveis elevados de PCR estão associados com risco aumentado de câncer de pulmão e possivelmente câncer de mama, próstata e colorretal.

O número de neutrófilos foi estatisticamente maior no grupo sem câncer apresentando doença periodontal (DP), quando comparado com o grupo de pacientes sem câncer e sem doença periodontal (SAU). Esses resultados se justificam em relação a doença periodontal – neutrófilos são a primeira linha de defesa do periodonto (LINDHE, 1999; DALE, 2002; LOSS, 2005). A detecção de números elevados de neutrófilos no sangue nos pacientes com

doença periodontal em comparação de pacientes saudáveis foi consistente com as observadas por Kweider (1993), Al-Rasheed A (2012). No estudo de Loss et al. (2000) foram encontrados níveis mais altos de neutrófilos em pacientes com periodontite crônica generalizada quando comparados a pacientes com periodontite localizada e pacientes saudáveis. É possível que estas células sejam recrutadas em altos níveis durante episódios de doença periodontal, disseminando-se no sistema circulatório (LOSS, 2005).

Observando os dados do *baseline*, pode-se levantar a hipótese de que o câncer não parece ser um fator que prejudica ainda mais o estado periodontal dessas pacientes. No entanto, esses resultados ainda precisam ser vistos com cautela. A pequena amostra trabalhada, especialmente no grupo com câncer e doença periodontal pode ter impedido de se chegar a uma diferença estatisticamente significativa. Além disso, o próprio critério de inclusão do estudo relativo ao número de dentes pode ter excluído do estudo uma significativa parcela de pacientes que exibiam perdas dentais importantes. Essa parcela de pacientes poderia portanto já ter índices mais graves de doença periodontal mostrando que a doença periodontal poderia ter tido uma evolução mais rápida e levado a uma maior perda dentária. Resultados como esse foram vistos num estudo caso-controle nessa mesma população onde foi observado que essas pacientes com câncer de mama tinham menos dentes do que o grupo controle, sem câncer e com doença periodontal (AMODIO, et al., 2014).

Ao analisar os parâmetros clínicos de profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção (NCI) após raspagem e alisamento radicular nos grupos com câncer e sem câncer apresentando doença periodontal, verificou-se que o grupo sem câncer (DP) teve uma maior redução de profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica quando comparado ao grupo com câncer e periodontalmente comprometido. Esses resultados foram observados tanto aos 45 quanto 90 dias pós-tratamento. As pacientes que passaram por quimioterapia podem ter tido um processo cicatricial prejudicado quando comparado às pacientes sem câncer, devido ao fato de a quimioterapia causar supressão da medula óssea inibindo a formação de uma resposta inflamatória adequada necessária para a iniciação do processo de reparo tecidual (BROUGHTON et al., 2006). Segundo Epstein e Moore (2001), em pacientes recebendo altas doses de quimioterapia, a resposta inflamatória pode ser limitada ou ausente, levando a lesões dos tecidos moles que não cicatrizam e má resposta à terapia de tecidos após procedimentos odontológicos.

Na análise percentual de IG e IP, observou-se uma redução significativa em todos os grupos analisados tanto aos 45 quanto aos 90 dias em relação ao *baseline* ($p < 0,05$). No entanto, aos 90 dias foi observado um índice de sangramento maior nas pacientes com câncer

e sem doença periodontal (CAN) do que as saudáveis (SAU). Apesar de diferente, os valores para os dois grupos foram considerados clinicamente baixos. No geral, houve uma diminuição do processo inflamatório local. Também, a análise do IP demonstrou que houve uma redução significativa nos percentuais de placa para todos os grupos, em todos os tempos. No entanto, para o grupo com câncer e sem doença periodontal (CAN) essa diferença não foi estatisticamente significativa. Alguns efeitos colaterais como mal estar, náuseas e vômitos podem impedir a realização de procedimentos mecânicos de higiene bucal. Outra explicação pode ser a xerostomia causada pela quimioterapia, a qual é associada com um incremento de colonização bacteriana sobre as superfícies dentais (KOSTLER et al., 2001; KROETZ; CZLUSNIAK, 2003). Além, disso, a mucosa oral após a quimioterapia fica muito sensível aos sabores fortes dos alimentos, assim como agentes aromatizantes como o dentifrício (SINGH et al., 1996), o que pode ter dificultado a escovação dos dentes. De qualquer forma, o controle do biofilme e da gengivite refletiu numa menor ocorrência de outros tipos de complicações orais tais como mucosite e candidíase (dados não apresentados) o que corrobora os achados de McGuire et al. (1993) e Barker (1999).

Os dados hematológicos de proteína C-reativa nas pacientes do grupo DP apresentaram redução aos 45 dias em relação ao *baseline*. Esses achados estão de acordo com Mattila et al. (2002) que observaram os mesmos resultados após 6 semanas do tratamento periodontal. No entanto, aos 90 dias após tratamento periodontal não-cirúrgico houve uma redução no nível de PCR, mas não foi estatisticamente significativa. Em um estudo de Ide et al. (2003), em que foi avaliado o efeito do tratamento periodontal sobre os níveis de marcadores séricos de fase aguda (PCR, TNF- α e IL-6) antes e após 3 meses do tratamento periodontal, os autores observaram que houve uma redução nos níveis de PCR, quando comparados ao *baseline*, no entanto, não houve mudanças estatisticamente significativas. Quanto às mudanças nos níveis de neutrófilos, o grupo DP apresentou uma redução percentual significativamente menor aos 45 dias quando comparado ao valor obtido no *baseline*. Nossos achados estão de acordo com os encontrados por Christan et al. (2002) e Rastogi et al. (2012), os quais observaram uma redução do número de neutrófilos após o tratamento periodontal não cirúrgico.

Quando avaliados apenas os grupos com doença periodontal, com ou sem câncer (DP e CAN-DP) aos 90 dias pós-terapia periodontal foi observado que pacientes com câncer e com doença periodontal não respondem ao tratamento periodontal de raspagem e alisamento radicular da mesma maneira que pacientes sem câncer. Esse fato pode ter acontecido devido a resposta ao tratamento quimioterápico. A quimioterapia inibe a cicatrização dos tecidos.

Estudos experimentais mostram que a inibição da produção de colágeno dos fibroblastos e uma diminuição da capacidade de combater infecções são devido as terapias antineoplásicas (BROUGHTON et al., 2006). Durlacher et al. (2002) afirmaram que em pacientes com doença periodontal, sob altas doses de quimioterapia, a infecção pode potencialmente contribuir para a destruição do tecidos conjuntivo e ósseo. Além disso, o sistema imune (inato e adaptativo) dos pacientes é prejudicado durante a quimioterapia, aumentando a susceptibilidade a infecções que podem levar a complicações sistêmicas (HAJISHENGALLIS, 2013). A quimioterapia pode causar uma mudança geral na microflora oral, para uma flora mais patogênica, caracterizada por bactérias anaeróbicas Gram-negativas (NAPENAS et al., 2005).

Neste estudo, seguindo o critério de avaliação de risco de progressão da doença periodontal criado por Lang e Tonetti (2003) observou-se que pacientes sem câncer e com doença periodontal (DP) apresentam um risco menor de progressão da doença após noventa dias da raspagem e alisamento radicular, quando comparado ao grupo de pacientes com câncer apresentando doença periodontal (CAN-DP). Nota-se ainda que o grupo com câncer exibe uma maior frequência de bolsas residuais em relação ao grupo DP. Bolsas residuais influenciam a progressão da doença e perda do dente durante a terapia periodontal de manutenção (BECK et al., 1997; MATULIANE et al., 2008).

Importante salientar que, mesmo realizando procedimentos de raspagem e alisamento radicular imediatamente antes da quimioterapia, ou seja, sem que tenha sido dado tempo aos tecidos periodontais para se recuperarem, e com a posterior instituição de terapia periodontal de suporte as pacientes, apesar de apresentarem bolsas residuais, nenhuma paciente teve episódios de exacerbação aguda. Isso significa que o tratamento periodontal e as medidas tomadas para melhorar a higiene bucal contribuíram para a redução da incidência de abscessos gengivais ou periodontais. Procedimentos de raspagem e alisamento radicular são fundamentais em pacientes com câncer reduzindo o número de bactérias bucais, como também é necessário um bom controle de placa bacteriana, podendo fazer uso de antimicrobianos como clorexidina e iodopovidona, durante a quimioterapia (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1997).

Até o presente momento este estudo é o primeiro em avaliar o efeito do tratamento periodontal e monitorar as condições sistêmicas em pacientes com câncer de mama sob tratamento de quimioterapia.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Pode se concluir o seguinte:

- i. A associação entre doença periodontal e câncer não foi comprovada.
- ii. Pacientes com câncer e sob quimioterapia não respondem ao tratamento periodontal não-cirúrgico da mesma forma que os pacientes sem câncer, necessitando tratamentos periodontais adicionais, mostrando que a quimioterapia prejudica o reparo tecidual.
- iii. Verificamos, também, que o risco de progressão da doença é maior nas pacientes com câncer apresentando doença periodontal quando comparadas com o grupo sem câncer apresentando doença periodontal.
- iv. No parâmetros hematológicos de PCR e neutrófilos, houve uma redução tanto em pacientes saudáveis como nos pacientes com câncer e em quimioterapia. Porém, essa redução é mais palpável nos pacientes sem câncer mostrando que a doença e/ou a quimioterapia prejudica o controle inflamatório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Academy of Periodontology. Committee on research, science and therapy. *J Periodontol* 1997; 68: 791- 801.
2. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.*, 4:1-6, 1999
3. Al-Rasheed A. Elevation of white blood cells and platelet counts in patients having chronic periodontitis. *Saudi Dent J.* 2012 Jan;24(1):17-21.
4. Ainamo, J & Bay Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal* 1975; 25: 229- 235.
5. Altay, Gurgan, and Agbaht. Changes in Inflammatory and Metabolic Parameters After Periodontal Treatment in Patients With and Without Obesity. *J Periodontol* 2013; 84:13-23.
6. Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A. Pathways connecting inflammation and cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 2008; 18: 3–10.
7. Allavena P, Germano G, Marchesi F, Mantovani A. Chemokines in cancer related inflammation. *Exp Cell Res.* 2011; 317: 664–73.
8. Archana V , Ambili R , Nisha KJ , Seba A , C Preeja Acute-phase reactants in periodontal disease: Current concepts and future implications. *J. Clinic Dent Investig* 2014 Feb 8. doi: 10.1111/jicd.12069.
9. Amodio, J. Effects of breast cancer and its treatment on the periodontium postmenopausal women. 2014. These, University of São Paulo, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto. Brazil.
10. Arora N, Papapanou PN, Rosenbaum M, Jacobs DR Jr, Desvarieux M, Demmer RT. Periodontal Infection, Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance: Results from The Continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2010. *Journal Clin Periodontology* Apr 8. doi: 10.1111/jcpe.12258.
11. Barrett J. Rollins. Inflammatory chemokines in cancer growth and progression. *European Journal Of Cancer*, 2006; 42:760–767.
12. Barros SP, Suruki R, Loewy ZG, Beck JD, Offenbacher S. A Cohort Study of the Impact of Tooth Loss and Periodontal Disease on Respiratory Events among COPD Subjects: Modulatory Role of Systemic Biomarkers of Inflammation. *PLOS ONE*, 2013; 8: e68592.

13. Barker, G.J. Current practices in the oral management of the patient under going chemotherapy or bone marrow transplantation. *Supportive Care in Cancer*, 1999; 7:17-20.
14. Beck JD, Sharp T, Koch GG, Offenbacher S. A study of attachment loss patterns in survivor teeth at 18 months, 36 months and 5 years in community dwelling older adults. *J Periodont Res*, 1997; 32: 497-505.
15. Broughton Ii, G.; Janis, J.; Attinger, C. Wound Healing: An Overview. *Plastic Reconstruction Surgery*, 2006; 117: 1e-S, 2006.
16. Coussens L. & Zena Werb. Inflammation and cancer. *Nature vol.* 420 December 2002; 860-273.
17. Chaturvedi R, Mili Gupta, Ashish Jain, Tarun Das, Savita Prashar. Soluble CD40 ligand: a novel biomarker in the pathogenesis of periodontal disease. *Clin Oral Inves.* 11 October 2013 /Accepted: 17 February 2014. DOI 10.1007/s00784-014-1216-3
18. Christan C, Dietrich T, Hagewald S, Kage A, Bernimoulin JP. White blood cell count in generalized aggressive periodontitis after non-surgical therapy. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 201-206.
19. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A. Molecular pathways in cancer-related inflammation. *Biochem Med (Zagreb)* 2011; 21:264–75.
20. DALE, B. A. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. *Periodontology* 2000, 30:70-78, 2002.
21. D’Aiuto F, Ready D, Tonetti MS. Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodontal Res* 2004; 39: 236-241.
22. Durlacher, Epstein, Raber, van Dissel, Van Winkelhoff, Guiot, van der Velden. Periodontal infection in cancer patients treated with high-dose chemotherapy. *Support Care Cancer* 2002; 10:466–473.
23. Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ, Willmann DE. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 347-352.
24. Epstein J.B, P. Stevenson – Moore Periodontal disease and periodontal management in patients with cancer. *Oral oncology*, 2001 37: 613-619.
25. Epstein Joel B., Chow Anthony W. Oral complications associated with immunosuppression and cancer therapies. *Infectious Disease Clinics of North America*, 1999; 13: 901-923.

26. Franco De conno, MD, Carla Ripamonti, MD, Alberto Sbanotto, MD and Vittorio Ventafridda, MD *Journal of pain and symptom Management* March 1989 vol.4 No. 1.
27. Fitzpatrick Sarah G, Joseph Katz The association between periodontal disease and Cancer: A review of the literature. *Journal Of dentistry*, 2010; 38: 83-95.
28. Gani DK, Mallineni SK, Ambalavanan, Ramakrishnan, Deepalakshmi, Emmadi P. Estimation of the Levels of C-reactive Protein, Interleukin-6, Total Leukocyte Count, and Differential Count in Peripheral Blood Smear of Patients with Chronic Periodontitis in a South Indian Population. *West Indian Med J* 2012; 61 (8): 826.
29. George AK, Janam P. The short-term effects of non-surgical periodontal therapy on the circulating levels of interleukin-6 and C-reactive protein in patients with chronic periodontitis *Journal of Indian Society of Periodontology* - Vol 17, Issue 1, Jan-Feb 2013.
30. Gomes-Filho I.S, Julita Maria Freitas Coelho, Simone Seixas da Cruz, Johelle Santana Passos, Camila Oliveira Teixeira de Freitas, Naiara Silva ragaõ Farias, Ruany morim da Silva, Milena Novais Silva Pereira, Tiago Lopes Lima, Mauricio Lima Barreto chronic periodontitis and C Reactive Protein Levels, *J. Periodontol.*, 2011; 82: 969-978.
31. Guo YZ, Pan L , Du CJ , Ren DQ , Xie XM . Associação entre proteína C reativa e risco de câncer: uma meta-análise de estudos prospectivos. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2013;14: 243-8.
32. Hajishengallis G., Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in Immunology* Trends in Immunology 35(1):3-11.
33. Hernandez M, Valenzuela MA, Lopez-Otin C, Alvarez J, Lopez JM, Vernal R, Gamonal J. Matrix Metalloproteinase-13 is highly expressed in destructive periodontal disease activity. *J Periodontol* 2006; 77:1863-1870.
34. Hespanhol FL Bucal Manifestations in patients submitted to chemotherapy. *Ciencia & saude coletiva* 2010, 15: 1085-1094.
35. Hong T¹, Liu A, Cai D, Zhang Y, Hua D, Hang X, Wu X. Preoperative serum C-reactive protein levels and early breast cancer by BMI and menopausal status. *Cancer Invest.* 2013; 31:279-85.
36. Holtfreter B, Empen K, Gläser S, Lorbeer R, Völzke H, et al. Periodontitis Is Associated with Endothelial Dysfunction in a General Population: A Cross-Sectional Study. *PLoS ONE*, 2013; 8: e84603.

37. Hujoel Philippe P., et al An exploration of the Periodontitis- Cancer Association *AEP* , 2003; 13: 312 – 316.
38. Hussain SP, Harris CC. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int J Cancer* 2007; 121:2373–80.
39. Hussain Bokhari, Ayyaz Ali Khan, Dimitris N. Tatakis, Mohammad Azhar, Mohammad Hanif,i and Mateen Izhar. Non-Surgical Periodontal Therapy Lowers Serum Inflammatory Markers: A Pilot Study. *Periodontol* 2009; 80:1574-1580.
40. Huang, S., Lu, F., Zhang, Z., Yang, X., Chen, Y. The role of psychologic stress-induced hypoxia-inducible factor-1 α in rat experimental periodontitis. *J Periodontol*, 2011; 82: 934–41.
41. Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF: Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 334-340.
42. Jung Y-S, Shin M-H, Kim I-S, Kweon S-S, Lee Y-H, Kim O-J, Kim Y-J, Chung H-J, Kim O-S. Relationship between periodontal disease and subclinical atherosclerosis: The Dong-gu study. *J Clin Periodontol* 2014; 41: 262–268.
43. Jukka H. Meurman Oral microbiota and cancer. *Journal of oral microbiology* 2010, 2: 5195.
44. Kostler, W. J. et al. Oral mucositis complicating chemotherapy and /or radiotherapy options for prevention and treatment. *Cancer J.Clinic, New York* 2001; 51:290-315.
45. Kroetz FM, Czlusniak GD, alterações bucais e condutas terapêuticas em pacientes infanto- juvenis submetidos a tratamentos anti-neoplásicos Publ. UEPG Ci. Biol. *Saúde, Ponta Grossa* jun. 2003; 9: 41-48.
46. Kweider M, Lowe GD, Murray GD, Kinane DF, McGowan DA. Dental disease, fibrinogen and white cell count; links with myocardial infarction? *Scott Med J* 1993; 38:73-74.
47. Khantisopon N, Louthrenoo W, Kasitanon N, Sivasomboon C, Wangkaew S, Sang-In S, Jotikasthira N. And Panwadee Bandhaya. *International Journal of Rheumatic Diseases*, Feb 28-2014. doi: 10.1111/1756-185X.12315.
48. Kornman, K. S.; Page, R. C.; Tonetti, M. S. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000, 14: 33-53, 1997.
49. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human Cancer. *J Intern Med*, 2000; 248:171-183.
50. Kumar PS. Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe*, 2013; 24: 90-93.

51. Loos BG. Systemic Markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2005; 76:2106-15.
52. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol*. 2000; 71:1528-34.
53. Lang, N. P.; Tonetti, M. S. Periodontal Risk Assessment (PRA) for Patients in Supportive Periodontal Therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent.*, 2003;1 7-16.
54. LINDHE, J. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral, 3º ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999.
55. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer related inflammation. *Nature*, 2008; 454:436–444.
56. Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol a Med* 2010; 10:369–73.
57. Mattila K, Vesanen M, Valtonen V, et al. Effect of treating periodontitis on C-reactive protein levels: A pilot study. *BMC Infect Dis* 2002; 2: 30-32.
58. Matuliane G, Pjetursson BE, Salvi GE, et al. Influence of residual pocket on progression of periodontitis and tooth loss: result after 11 years of maintenance *Journal of clinical periodontology*. Aug 2008; 35: 685-695.
59. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol* 2013;84(4 Suppl.):S170-S180 doi:10.1902/jop.2013.1340015
60. Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MC, De Souza AM, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Novaes AB, Gerlach RF. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects *J Periodontol*. 2000; 80:594-602
61. Mendonça, Elismauro Francisco de; Carneiro, Luciano Sandoval; Silva, Janaína Benfica e; Silva, Clóvis Martins da; Palmeira, Geisa Badauy Lauria Silva. Oral complications of chemotherapy and radiotherapy in cancer treatment. *Rev ABO nac* jun.-jul. 2005.13(3):151-157.
62. Meyer MS. Kaumudi Joshipura, Edward Giovannucci, Dominique S. Michaud. A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease and cancer. *Cancer Causes Control* 2008, 19:895-907.
63. Mealey R. Periodontal implications: medically compromised patients. In: World Workshop in Periodontics, 1996, Lansdowne. *Ann Periodontol* 1996. 1:285-87.

64. Michaud Dominique S., Kaumudi Joshipura , Edward Giovannucci , Charles S. Fuchs. A Prospective Study of Periodontal Disease and Pancreatic Cancer in US Male Health Professionals. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 171 – 5.
65. Michaud Dominique S, Yan Liu, Mara Meyer, Edward Giovannucci, Kaumudi Joshipure. Periodontal disease, tooth loss, and cancer risk in male health professionals: a prospective cohort study. *Lancet oncology* 2008; 9: 550-558.
66. Michaud. S.D., Review, Role of bacterial infections in pancreatic cancer. *Carcinogenesis*, 2012; 34: 2193–2197.
67. McGuire, Altomonte, V., Peterson, D.E., Wingard, J.R. Jones. R.J., Grochow. LB. Patterns of mucositis and pain in patients receiving preparative chemotherapy and bone marrow transplantation. *Oncology Nursing Forum*, 1993; 20:1493-1502.
68. National Cancer Institute (NCI) Consensus Statement: Oral complication of cancer therapies. National Institutes of Health Consensus Development Panel NCI Monogr. Washinton, DC, 1990; 9: 3-8.
69. Napeñas JJ, DDS,a Michael T. Brennan, DDS, MHS,b Farah K. Bahrani-Mougeot, PhD,c Philip C. Fox, DDS,d and Peter B. Lockhart, DDS,e Charlotte, NC. Relationship between mucositis and changes in oral microflora during cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103: 48-59.
70. Naves R.C., Texeira de Freitas C.O., Barbosa M., Tunes U. Serum levels of C- reactive protein in patients with periodontal disease. *Revista Periodontia – Setembro 2008 – Vol 18 - Nº 03*.
71. Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, De Nardin E. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol*. 2001; 72: 1221-27.
72. Oliver RC, Brown LJ & Löe H. Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol*, 1998; 69: 269-78.
73. O’Leary TJ, Drake RB, Naylor JE: The plaque control record. *J Periodontol* 1972; 43:38.
74. Pendyala, G. et al. Links demystified: Periodontitis and cancer. *Journal Dental Research*, 2013; v. 10, n. 6.
75. Pico JL, Avila-Gavarito A, Naccache P. Mucositis: its occurrence, consequences and treatment in the oncology setting. *Oncol Phys Educ* 1998; 3: 446-51.
76. Rajeev R, Choudhary K, Panda S, Gandhi N Role of bacteria in oral carcinogenesis *South Asian J Cancer*. 2012;1:78-83.

77. Radafshar G, Shad B, Ariamajd E, Geranmayeh S. Effect of intensive non-surgical treatment on the level of serum inflammatory markers in advanced periodontitis. *J Dent (Tehran)*. 2010 Winter;7:24-30.
78. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol*. 2000;18: 217–42.
79. ROSANIA, A. E. et al. Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *J Periodontol*, 2009 v. 80, n. 2, p. 260-266.
80. Rastogi P, Singhal R, Sethi A, Agarwal A, Singh VK, Sethi R. (2012) Assessment of the effect of periodontal treatment in patients with coronary artery disease: A pilot survey. *Journal of Cardiovascular Disease Research* 3 (2): 124-127
81. Rutkauskas, Jhon S., MS, DDS, and John W. Davis, DDS, Effects of chlorhexidine during immunosuppressive Chemotherapy. *Oral Surgery Oral medicine Oral Pathology*, October, 1993.
82. Sanz M, Kornman K, and on behalf of working group 3 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol* 2013; 84:S164-S169.
83. Singh N, C. Scully and S. Joyston – Bechal Oral complications of cancer therapies: *Prevention and management Clinical Oncology*, 1996; 8: 15- 24.
84. Szlosarek P, Charles KA, Balkwill FR. Tumour necrosis factor-alpha as a tumour promoter. *Eur J Cancer*. 2006 Apr;42(6):745-50.
85. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilm: difficult therapeutic targets *Periodontol* 2000 28:12-55, 2002.
86. SÖDER, B. et al. Periodontal disease may associate with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2011; 127: 497–502.
87. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal disease and diabetes: *Ann periodontol*. 2001; 6: 91-98.
88. Sonis, S.T.; Fazio, R.C.; FANGL. Principios e prática de medicina oral. 2. ed. Rios de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 491 p.
89. Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways *Carcinogenesis*. 2010; 31:37-49.
90. Shen, H.M, Tergaonkar. NFkappaB signaling in carcinogenesis and as a potential molecular target for cancer therapy. *Apoptosis*, 2009; 14:348–363.

91. Slattery ML, Wolff RK, Herrick J, Caan BJ, Samowitz W. Tumor markers and rectal cancer: Support for an inflammation-related pathway. *Int J Cancer*. 2009; 125:1698–704.
92. Soory M. Oxidative stress induced mechanisms in the progression of periodontal diseases and cancer: A common approach to redox homeostasis? *J Cancers*. 2010; 2:670–92.
93. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal disease and diabetes: *Ann periodontol*. 2001; 6:91-98.
94. Stolz A.B, Miranda Jr, Foletto E, Praetzel J, Flores J.A. Atendimentos odontológicos no Setor de Hemato- Oncology Setting. *Oncol Phys Educ*, 1998; 3:446-51.
95. Stankoa P, Izakovicova L, Holla. A review. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2014; 158:35-38.
96. Szlosarek P, Kellie A, Charles, Frances R, Balkwill. Tumour necrosis factor- α as a tumour promoter. *European Journal of Cancer*, 2006; 42 745–750.
97. Tanwir, F.; Sadia; Shaukat, D. Relationship between periodontal disease, tooth loss and cancer. *Pakistan Oral & Dental Journal*, 2012 v. 32, n. 1.
98. Van dyke, T. E.; van Winkelhoff, A. J. Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of Clinical Periodontology*, 2013; 40: 1-7.
99. Williams RC & Offenbacher S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol 2000*, 23:9-12, 2000.
100. Van dyke, T.E., van Winkelhoff, A. J. Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of Clinical Periodontology*, 2013; 40: 1-7.
101. Van Kempen LC, de Visser KE, Coussens LM. Inflammation, proteases and cancer. *European Journal of cancer* 2006; 42:728-34.
102. Williams RC & Offenbacher S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol 2000*, 23:9-12, 2000.
103. Yipping Weng Han. *Journal of periodontology* .2014 Feb 28.
104. Zhao L, Zhou Y, Xu Y, Sun Y, Li L, Chen W. Effect of non-surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2011; 38: 509–516.

ANEXOS

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos você, _____ para participar voluntariamente do projeto intitulado “Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer ginecológico sob tratamento quimioterápico”, tendo como responsáveis pela execução a Cirurgiã Dentista Kelly Rocio Vargas Villafuerte, a Prof. Dra. Daniela Bazan Palioto, Professora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

Declaro que tomei ciência e que fui esclarecida de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre minha participação no estudo, de acordo com as informações abaixo, que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- O estudo será realizado com o objetivo de avaliar as condições periodontais em mulheres com câncer ginecológico, sob tratamento quimioterápico, e monitorar o efeito do tratamento periodontal nas condições clínicas e sistêmicas.
- Esta análise será feita após a avaliação de seus parâmetros clínicos periodontais, coleta da sua saliva e coleta do seu sangue antes do início do tratamento periodontal, após 45 dias, seis meses e um ano do tratamento periodontal.
- Para a coleta da saliva, você irá a cuspir em um recipiente dado pelos pesquisadores. Não poderá comer beber ou realizar higiene oral 2 horas antes da coleta.
- A coleta do seu sangue será feita no Hospital das Clínicas, por um profissional experiente e que poderá sentir um leve desconforto durante o procedimento, que serão analisados em laboratório, e que será informada dos resultados.
- Após a realização do diagnóstico periodontal, será elaborado um plano de tratamento periodontal. No caso de que você não tenha doença periodontal será feita a terapia preventiva como, instruções de higiene oral, raspagem supra gengival (ultrassom) e/ou profilaxia com taça de borracha.
- Antes de começar o tratamento periodontal você será colocado em um programa de adequação do meio bucal onde poderão ser feitas extrações dentárias quando for necessária, profilaxia com ultrassom, e adequação de restaurações em excesso/falta.
- O tratamento periodontal será realizado com curetas manuais e ultrassônicas, e você estará sob anestesia local durante a raspagem subgengival.
- Poderá sentir um leve desconforto após o tratamento periodontal, que irá diminuir em algumas horas após a realização do procedimento, serão prescritos remédios para dor, caso você tenha necessidade.
- Todo material a ser empregado nas coletas e no tratamento periodontal serão previamente esterilizados (livre de germes), e armazenado em embalagem individual que será aberta na sua frente.
- Após o término do tratamento periodontal, você será colocada no programa de manutenção da terapia.

- Será informada antes e durante a realização da pesquisa, de como esta se desenvolverá, bem como de que forma ocorrerá a sua participação na mesma.
- Os benefícios que deverá esperar com sua participação serão diretos, como diagnóstico e tratamento da doença periodontal, além de informações e tratamento para prevenir a doença periodontal, melhorando sua qualidade de vida.
- Você poderá, a qualquer momento, durante a elaboração do projeto, deixar de participar, sem que isso traga qualquer penalidade ou prejuízo, e que também poderá recolher junto aos idealizadores do estudo todos os documentos com seus dados coletados.
- Você estará disposta a autorizar sua participação para que os resultados encontrados possam ajudar outras pessoas.
- Não será oferecido nenhum tipo de pagamento pela sua participação. Mas, será fornecido (Lanche e/ou almoço) e transporte de ida e volta se necessário.
- No caso de dano pessoal diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo você terá direito a custeio médico-odontológico.
- Ao final da pesquisa, será informado sobre todos os resultados obtidos.

Desta forma, confirmo que recebi de maneira clara, Todas as etapas da pesquisa e tendo compreendido perfeitamente todas as informações sobre minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos direitos, das responsabilidades, dos riscos e dos benefícios, concordo em participar da mesma por isso assino este documento, POR LIVRE E ESPONTÂNEA VONTADE.

Endereço do participante-voluntário(a)

Domiciliado (Rua, Avenida, Conjunto):

Bloco/ N°/ Complemento:

Bairro/ Cidade:

Telefone:

E- mail

Endereço do responsável pela pesquisa

Instituição: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Campus: Ribeirão Preto

Telefone: (16) 36024136

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante sua participação no estudo, dirija-se ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto. Secretária: Juliana Godoi de Oliveira Silva – telefone 3602-4123.

Pesquisador responsável – Daniela Bazan Palioto

CPF: 182.164.488-30

Pesquisador Participante – Kelly Rocio Vargas Villafuerte

CPF: 233.855.488-45

Paciente ou Responsável

Ribeirão Preto, ____/____/____

ANEXO B

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO/ FORP/ USP

PROJETO DE PESQUISA

Título: Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer ginecológico sob tratamento quimioterápico.

Área Temática:

Área 5. Novos procedimentos ainda não consagrados na literatura.

Versão: 2

CAAE: 03121212.6.0000.5419

Pesquisador: Daniela Bazan Palioto

Instituição: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/
FORP/ USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 101.771

Data da Relatoria: 18/09/2012

Apresentação do Projeto:

Coerente e mostrando a relevância da pesquisa no assunto relativo a câncer e doença periodontal.

ANEXO C

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Ribeirão Preto, 23 de agosto de 2012.

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Daniela Bazan Palioto

Prezada Professora,

O projeto intitulado "**Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer ginecológico sob tratamento quimioterápico**", protocolado sob nº 52/2012, de sua autoria, recebeu parecer favorável para ser desenvolvido junto ao Departamento, devendo ser enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, antes do início da coleta de dados.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Antonio Alberto Nogueira
Presidente da Comissão de Pesquisa do Departamento de
Ginecologia e Obstetrícia – FMRP-USP

ANEXO D

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 24 de setembro de 2012

Projeto de pesquisa: "AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES PERIODONTAIS EM MULHERES PORTADORAS DE CÂNCER GINECOLÓGICO SOB TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO"

Pesquisadores responsáveis: Daniela Bazan Palioto

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP

"O CEP do HC e da FMRP-USP concorda com o parecer ético emitido pelo CEP da Instituição Proponente, que cumpre as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Diante disso, o HCFMRP-USP, como instituição co-participante do referido projeto de pesquisa, está ciente de suas co-responsabilidades e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos desta pesquisa, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar".

Ciente e de acordo:

Dr^a Marcia Guimarães Villanova
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - HCFMRP-USP

Prof. Dr. José Alexandre de Souza Crippa
Coordenador Técnico Científico da Unidade
de Pesquisa Clínica – HCFMRP-USP

ANEXO E: Artigo científico submetido para publicação no periódico *Clinical Oral Investigation*.

Assessment of periodontal conditions in women with breast cancer undergoing chemotherapy

Vargas-Villafuerte K. R.¹, Michel R. Messoria¹, Arthur B. Novaes Jr.¹, M. Grisi¹, Mario Taba Jr.¹, Sérgio L. S. Souza¹, Candido-Dos-Reis, F.J.², Carrara, H.H.A.², Daniela Bazan Palioto¹

¹Department of Oral &Maxillofacial Surgery and Periodontology, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo- USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

²Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo. Brazil.

Correspondence Address

Prof. Dra. Daniela Bazan Palioto

Telephone: +55 16 36024136/Fax: +55 16 36024788

Av. Café, s/n 14040-904

Ribeirão Preto/SP, Brazil

e-mail: dpalioto@forp.usp.br

Conflict of interest and Sources of Funding Statement

The authors declare that there are no conflicts of interest in this study. This study was financially supported by the Sao Paulo Research Foundation – FAPESP (Protocol number 2012/ 20971-8)

ABSTRACT

Aim: This study compared the periodontal status in healthy and breast cancer patients before chemotherapy and monitored the effect of periodontal treatment in the clinical and systemic conditions. **Materials and Methods:** The subjects were allocated into four groups: healthy patients (H) (n=16); cancer patients without periodontal disease (CAN) (n=15); periodontally compromised patients (PC) (n=18); and cancer and periodontally compromised patients (CAN-PC) (n=10). The clinical parameters: probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), plaque index (PI) and gingival index (GI); the hematological parameters: C-reactive-protein (CRP) and neutrophils (PMN) were accessed at baseline, 45 and 90 days after non-surgical periodontal therapy. **Results:** At baseline, there was no difference between the two periodontally healthy and the two periodontally compromised groups regarding the clinical parameters; there were no statistically significant differences for PCR; and PMN were statistically higher for the PC groups ($p \leq 0,05$). After the periodontal treatment there was a significant reduction ($p \leq 0,05$) of PD in the CAN group and in the PC group at 90 days post therapy comparing to baseline ($p \leq 0,05$). There was a significant reduction on the PI 45 and 90 days for the H, PC and CAN-PC groups ($p \leq 0,05$). All groups had a significant reduction on IG. At 90 days post periodontal treatment, the CAN-PC group exhibited less PD reduction ($p \leq 0,05$) when compared to PC group. The PC and the CAN groups showed a statically significant reduction in PCR levels at 45 days ($p < 0,05$). The PC group had a significant reduction in the PMN at 45 days when compared to baseline **Conclusion** The periodontal treatment reduces the inflammatory markers of gingivitis and periodontitis and the hematological markers, however, this reduction is more pronounced in patients without cancer.

Clinical Relevance: Patients with cancer and periodontal disease with preexisting chemotherapy can lead to systemic infections induced by microorganisms that spread systemically. The periodontal treatment helps lessen the side effects of chemotherapy, improving clinical and systemic conditions of the patients. Improving the quality of life of cancer patients and generate knowledge that enable healthcare professionals through technical and scientific improvement so that they can promote interaction between research and professional practice, improving the quality of services provided.

Keywords: periodontal disease, breast cancer, chemotherapy, inflammatory markers

INTRODUCTION

Periodontal disease was associated with a small but significant increased risk of cancer in general, suggesting that periodontal disease can be an indicator of susceptibility of the immunological system and that can directly affect the risk of cancer [1]. The periodontal disease is a chronic inflammation that also consists of an infection of the support tissues of the teeth, which lead to the destruction of the bone and periodontal attachment, being responsible for the main cause of dental loss in adults [2]. Although the primary etiological factor of PD (periodontal disease) is the oral biofilm, the response of the host and other several systemic diseases seem to be associated with its development [3, 4]. In the recent years, numerous epidemiological studies showed that oral infections associate themselves with systemic diseases such as cardiovascular disease [5, 6, 7], low weight and premature birth [8, 9], diabetes [10, 11], respiratory diseases [12] and rheumatoid arthritis [13]. Recently an association between periodontal disease and cancer has been established and the logic behind the purposed association is that inflammation is a common factor between both diseases [14, 15]. Inflammation caused by infections seems to be one of the most important and avoidable causes for cancer in human beings [16, 17]. The immune inflammatory response is the key factor both for periodontitis as for cancer, although, all the involved mechanisms in this association have to be clarified. The interrelation between inflammation and cancer could be explained by two consistent pathways. First, the extrinsic pathway, in which a constant inflammatory state contributes to the increase of cancer risk and, second, the intrinsic pathway, in which the acquired genetic alterations lead to the development of malignant neoplasms [18].

Periodontal disease is initiated by a pathological biofilm on which triggers an immune-inflammatory response in the adjacent host tissues [19]. This can be explained by the fact that periodontal bacteria presents a large amount of virulent factors, which induces important inflammatory response [20, 21, 22]. Also, in the dynamics of periodontal disease, a variety of cytokines and lipopolysaccharide are released in the blood flow and they act in the hepatocytes, promoting the of the acute phase response with consequent production of biomarkers like, *C-reactive protein* (CRP), which in turn relates with alterations in the vascular endothelium [23].

Studies have shown that the periodontal infection may be aggravate during the cancer treatment due to the lower immunity, caused by chemotherapy. This may result in pain, oral

and systemic infection, since the ulceration of the gingival epithelium is no longer controlled by the defence mechanisms, allowing the entrance of bacteria, which can lead to septicemia. Oral ulceration in neutropenic patients is a threat to life, increasing the morbidity of cancer patients [24]. In addition, other types of collateral damage that can occur in the oral cavity during and after the treatment may result in disturbances of the integrity and function of the normal cells. Among the highlights are several changes in the salivary glands, causing hyposalivation and xerostomia, infections (fungal, viral and bacterial), specially herpes, neutropenic ulcers, mucositis, hemorrhage, changes in taste, dental pathologies, thrismus, dysphagia, aphthous lesions, periodontal diseases, among others [25, 26, 27, 28].

During the chemotherapy, gingiva can be affected due to the direct toxicity of the chemotherapy treatment, which induces marginal gingivitis [29, 30], as well as the important systemic complications resulted of the immunosuppression [31].

Given the above, it is necessary to compare the periodontal status in healthy and breast cancer patients before chemotherapy and understand how the periodontium may be affected during chemotherapy, and evaluate whether periodontal treatment can improve the clinical and systemic conditions of the patients.

MATERIALS E METHODS

Subject population

Subjects who fulfilled the inclusion criteria were invited to participate in the study. All eligible subjects were thoroughly informed of the nature, potential risks and benefits of their participation in the study and signed an Informed Consent. The study protocol was reviewed and approved by the Research Ethics Committee of our institution (n°:03121212.6.3001.5440).

Selection of patients

According to periodontal status and general health condition, patients were included in the study.

The inclusion criteria were: (i) presence of at least 15 teeth excluding teeth indicated for extraction; (ii) presence of 6 teeth with probing depth ≥ 5 mm and loss of insertion ≥ 5 mm for the compromise periodontal patients (32); (iii) the presence of probing depth ≤ 3 mm; (iv) plaque index and gingival index of $\leq 20\%$ for the healthy (H) group. The exclusion criteria

were: (i) positive history of periodontal treatment in the last six months, (ii) diabetic patients (iii) extensive prosthetics involvement, (iv) need for antibiotic prophylaxis for the routine dental procedures, (v) use of anti-inflammatory for long periods of time or any drugs that may interfere with the periodontal aspects, (vi) use of tobacco, (vii) pregnancy, (viii) and patients that drop out of the treatment or that are unable to attend the consults.

Experimental design

Before starting, the selected patients were allocated into the following experimental groups: patients with cancer and without periodontal disease who received preventive periodontal therapy (CAN) (n = 15); patients with cancer and periodontal disease who received periodontal treatment (CAN- PC) (n = 10); patients healthy both the systemic point of view as periodontal (n = 16); and individuals who do not have cancer, but who have therefore received periodontal disease and periodontal treatment (PC) (n = 18).

The periodontal clinical and laboratory parameters were assessed at baseline (pre-intervention period) and after completion of periodontal therapy (post intervention). The clinical periodontal examinations (pre-and post-intervention) were performed by a single trained and calibrated using computerized electronic probe controlled pressure (Florida Probe Corporation, Gainesville, FL, USA) examiner, being recorded at baseline (pre-intervention period), to 45 days, and 90 days (post-intervention).

Examiner calibration

All clinical parameters were measured by a single examiner. At two separate sessions, 48 h apart, duplicate measurements of PD and CAL were obtained from ten patients who were not related to this study and presented at least two pairs of contralateral single rooted teeth with $PD \geq 5$ mm in proximal sites. The examiner was considered calibrated when the percentage of agreement between repeated measurements, assuming the maximum variation of 1 mm, was greater than or equal to 90%. The coefficient of intra-class correlation was used to ensure calibration of the examiner

Clinical periodontal parameters

The following clinical parameters were evaluated:

Dichotomous Plaque Index (PI) [33] was determined by the presence or absence of plaque at the gingival margin of the four faces of the tooth and was expressed as a percentage of biofilm on the total of tooth surfaces.

Dichotomous Gingival Index (GI) [34] was determined by the presence or absence of bleeding on probing on four sides of each tooth and was expressed as a percentage of bleeding on the total of tooth surfaces with bleeding.

Probing depth (PD) was measured from the free gingival margin to the bottom of the gingival sulcus or periodontal pocket.

Clinical attachment level (CAL) was measured from the cemento-enamel junction to the base of periodontal pocket. PD and CAL were measured at six sites per tooth, three sites in the buccal and three in the lingual or palatal sites. All probing measurements were performed using an automated periodontal probe (Florida Probe Corporation, Gainesville, FL, U.S.A.).

Laboratorial analysis

The blood samples for the of the inflammatory markers analysis were taken through punctures, at baseline, +45 days and + 90 days after the periodontal treatment analysed: (C-reactive protein (CRP) and neutrophils). The levels of CRP of the serum were assessed by turbidimetry method.

PERIODONTAL THERAPY

Patients with cancer and without periodontal disease received preventive therapy, the periodontally compromised patients with or without cancer received periodontal treatment.

Preventive therapy

The H group and the CAN group patients received instruction for an effective biofilm control, including brushing with the Bass technique [35], interproximal cleaning with dental floss, and the interdental brushes, and were motivated to brush the back of the tongue once a day. After the program of oral hygiene instructions, the patients were submitted to an evaluation of the periodontal clinical parameters as previously described. Following, they received supragingival scaling (ultrasound), prophylaxis and/or a coronary polish with rubber cups, in every dental element present in the oral cavity. All the patient of the control group returned every 30 days for a biofilm control, which was performed by means of a prophylaxis and polishing with rubber cups.

Periodontal treatment (R.A.R)

The periodontal treatment initiated 7 days after the instructions of oral hygiene (IHO) and from the initial supragingival scaling. The treatment was conducted by a specialist in periodontics, in an interval of 24 hours, by means of scaling (subgingival) under local anaesthesia and the root planning of all periodontally involved teeth. It was performed using manual instruments (Gracey curettes; Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, IL, EUA) ultrasonic devices (Bob-Cat, Dentsply/Cavitron, Long Island City, NY, EUA), and, if necessary, with multilaminated drills. The instrumentation was performed quadrant by quadrant until reach adequate surface quality assessed by a periodontal probe.

The evaluation of the periodontal clinical parameters was +45 days and +90 days after the periodontal treatment. Supportive Periodontal therapy was conducted every 3 months after treatment.

Periodontal therapy of support (TPS)

The patients received control of biofilm, scaling and root planning with manual curettes in the sites that had a probing depth ≥ 4 mm, which continued bleeding. That consisted of reinforcement in oral hygiene, and prophylaxis.

Statistical Analysis**Clinical parameters**

In each patient was calculated the mean $\pm$ standard deviation of PD, CAL, PI, IG and the experimental unit was the individual. The inter-group differences at baseline were verified by analysis of variance followed by post-hoc Bonferroni test ($p < 0.05$), for the analysis of experimental time (baseline, +45 and +90 days), as well as differences inter and intragroup PD and CAL were evaluated by analysis of variance followed by two criteria Post - hoc Bonferroni test ($p < 0.05$), GI and PI were verified by Friedman test ($p < 0.05$), respectively. The data of Average reduction of PS, waste bags and risk of disease progression were also presented as absolute and relative frequencies, differences between and within groups were assessed by unpaired t test and the chi-square test.

Hematological parameters

For analysis of hematological parameters (CRP and neutrophils), data were presented as means and standard deviations and were checked by analysis of variance followed by post-hoc Bonferroni test ($p < 0.05$). The intra and inter-group differences as the analysis of time (+45 and +90 days) for PCR were evaluated by ANOVA ($p \leq 0.05$).

RESULTS

Although 122 cancer patients were screened, only 25 embedded in the inclusion criteria, most of the patients were excluded for the following reasons: lack of a minimum of number teeth (15 teeth), diabetes, hypertension and some were unable to attend the schedules because of their advanced age.

The clinical and hematological parameters were evaluated in 59 patients: 16 healthy (H), 18 periodontally compromised (PC), 15 patients with cancer and without periodontal disease (CAN), 10 patients with cancer periodontally compromised (CAN-PC). The age of the patients was similar, with a median of 47.65 ± 1.83 . Patients included had more than 20 teeth, with median 25, 17 ± 1.27 .

The results of the intergroup comparisons obtained at baseline, show that groups with periodontal disease had higher averages and standard deviations in probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), plaque index (PI) ($p < 0.01$) and gingival index (GI) ($p < 0.001$), the cancer was not a factor that further compromised periodontal status of these patients.

The levels of C-reactive protein (CRP) were not statistically different for any of the analysed groups ($p > 0.05$), while the number of neutrophils was significantly higher ($p \leq 0.05$) in the PC group than in other groups, including the group with cancer and periodontal disease (Figure 1).

The values of PD, CAL, GI and IP for CAN, H, PC and CAN-PC groups at baseline, 45 and 90 days after periodontal treatment are shown in Figure 2. At 90 days comparing baseline. There was a significant reduction in PD for the group (CAN) and group (PC) ($p < 0.05$). Only the group (PC) showed a gain statistically significant in clinical attachment level at 45 and 90 days compared to baseline ($p < 0.05$). However, this could not be understood as clinically relevant.

In the intra-group comparisons, there was a significant reduction in the percentage of plaque in all groups. Except for the CAN group ($p > 0.05$). A significant reduction in the percentage of gingival index was observed in all groups at 45 and 90 days compared to baseline ($p < 0.05$). However, at 90 days gingival index was statistically higher in patients with cancer and without periodontal disease (CAN) than in healthy patients (H) ($p < 0.05$) (Figure 2).

Regarding the levels of C-reactive protein there was statistically significant reduction at 45 days comparing to baseline, ($p \leq 0.05$) for the PC group and the CAN group. Although at 90 days compared to values obtained at baseline also a statistically significant difference for CAN ($p \leq 0.05$) was observed. For other groups, two groups no statistically significant differences were found. The PMN levels had a significant reduction for the PC group at 45 days when comparing to at baseline ($p \leq 0.01$), while in the other groups, no statistically significant difference ($p \leq 0.05$) was not found (Figure. 2).

When only the groups with periodontal disease, with or without cancer (PC) and (CAN-PC) were compared at 90 days after periodontal therapy is perceived that the CAN group, in other words, the group that underwent chemotherapy (CAN-PC), experienced less reduction in probing depth compared to the group that did not receive chemotherapy (PC) ($p < 0.05$). Also the group with cancer exhibits a higher frequency of residual pockets, in relation to group PC ($p < 0.05$). Furthermore, all patients in the CP group exhibited low risk disease progression (100%), while the CAN-PC group 60% of the patients exhibited a low risk of progression, 30% a moderate risk and 10% a high risk of periodontal disease progression (Figure 3)

DISCUSSION

The hypothesis proposed for the relationship between periodontal disease and cancer includes systemic inflammation or increased concentrations of carcinogenic compounds as a result of periodontal bacteria from the oral cavity that could be involved in cancer development [36]. There is evidence that pre-existing periodontal condition may worsen during anticancer treatment and that, preferably, patients should have their periodontal conditions treated prior to initiation of cancer therapy [27, 37, 38, 39, 40]. The data from our study provide preliminary information on how the periodontium is affected during chemotherapy in patients with breast cancer and periodontal treatment as reflected in clinical and systemic inflammatory conditions of these cancer patients.

The analysis of the clinical parameters at *baseline* showed that patients with and without cancer exhibited the same levels of periodontal problems, whether gingivitis or periodontitis. Likewise, the hematological parameters were similar for all experimental groups. Other studies have shown that patients with periodontal disease have elevated CRP levels at the beginning, before periodontal treatment [41, 42, 43, 44]. However, it is perfectly plausible that some individuals who have some kind of genetic susceptibility for inflammatory hyperactivity may be predisposed to changes in the levels of acute phase proteins [44].

Moreover, elevated serum CRP levels are positively associated with breast cancer, predominantly in overweight and postmenopausal women [45]. A meta-analysis of prospective studies Guo et al. [46], addressed the association between CRP and cancer risk. The results of this meta-analysis showed that elevated CRP levels are associated with increased risk of lung cancer and possibly breast cancer, prostate and colorectal.

The number of neutrophils was higher in the group without cancer presenting periodontal disease (PC) compared with the group of patients without cancer and without periodontal disease (H). These results are justified in relation to periodontal disease - neutrophils are the periodontium first line of defense [47, 48, 49]. The detection of elevated numbers of neutrophils in the blood of patients with periodontal disease compared to healthy patients was consistent with that observed for Kweider [50] Al-Rasheed A [51]. In the study by Loss et al. [42] higher levels of neutrophils were found in patients with generalized chronic periodontitis compared to patients with localized periodontitis and healthy patients. It is possible that these cells are recruited at high levels during episodes of periodontal disease, spreading the circulatory system [49].

Looking at the data from the *baseline*, one can hypothesize that cancer does not appear to be a factor that may further harm the periodontal status of these patients. However, these results still need to be viewed with caution. The small sample size, especially in the group with cancer and periodontal disease can have hindered reaching a statistically significant difference. In addition, the inclusion criteria of the study itself on the number of teeth can exclude an important proportion of patients exhibiting significant tooth loss from the study. This portion of patients may, therefore, have more severe levels of disease showing that periodontal disease could have had a more rapid evolution and lead to greater tooth loss. Results like this have been seen in a case-control study in the same population where it was observed that these patients with breast cancer had fewer teeth than the control group without cancer and periodontal disease [52].

When analyzing clinical parameters of probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL) after scaling and root planning in the periodontally compromised groups with and without cancer, it was found that the group without cancer (PC) had greater reduction in probing depth and a greater clinical attachment gain compared to the group with cancer (CAN-PC). These results were observed at 45 and 90 days post-treatment. The patients undergoing chemotherapy may have had an impaired wound healing when compared to patients without cancer, due to the fact that chemotherapy causes bone marrow suppression by inhibiting the formation of an adequate inflammatory response required for the initiation of the tissue repair process [53]. According to Epstein & Moore [38], in patients receiving high-doses of chemotherapy, the inflammatory response may be limited or absent, leading to soft tissue injuries that do not heal and a poor response to tissue therapy after dental procedures.

In percentage IG and IP analysis, we observed a significant reduction in all groups at 45 and 90 days compared to baseline ($p < 0.05$). However, at 90 days greater gingival bleeding was observed in patients with cancer and without periodontal disease (CAN) than in healthy patients (H). Although statistically different, values for the two groups were considered clinically low. Overall, there was a reduction of the local inflammatory process. Also, the IP analysis demonstrated that there was a significant reduction in the percentage of plaque in all groups at all times. However, for the group with cancer and without periodontal disease (CAN) this difference was not statistically significant. Some side effects such as malaise, nausea and vomiting may prevent the realization of mechanical oral hygiene procedures. Another explanation may be xerostomia caused by chemotherapy, which is associated with an increase in bacterial colonization on tooth surfaces [27, 30]. Furthermore, the oral mucosa after chemotherapy is very sensitive to strong flavors of the dentifrices [54], which may have hindered the brushing of teeth. Also, the good plaque and gingivitis control reflected in a lower incidence of other complications such as oral mucositis and candidiasis (data not shown), which corroborates the findings of McGuire et al. [55] and Barker [56].

Hematological data of C-reactive protein in patients in the PC group showed a reduction at day 45 compared to *baseline*. These findings are in agreement with Mattila et al. [57] who observed the same results after 6 weeks of periodontal treatment. However, 90 days after non-surgical periodontal treatment there was a reduction in the CRP level, but not statistically significant. In a study by Ide et al. [58], where the effect of periodontal treatment on the levels of serum markers of acute face (CRP, TNF- α and IL-6) were evaluated before and 3 months after periodontal treatment, the authors observed that there was a reduction in CRP levels,

when compared to baseline, however, there were no statistically significant changes. As for the changes in the levels of neutrophils, the PC group showed a significantly lower reduction at 45 days when compared to the value obtained at baseline. Christan et al. [58] and Rastogi et al. [60] observed a reduction in the number of neutrophils after non-surgical periodontal treatment in patients with periodontal disease, which is consistent with our results.

When only the groups with periodontal disease, with or without cancer (PC and CAN-PC) at 90 days post-periodontal therapy, it was observed that cancer patients with periodontal disease and do not respond to periodontal treatment (scaling and root planning) in the same way as patients without cancer. This may have happened because of the response to chemotherapy. Experimental studies show that inhibition of fibroblast collagen production and a decreased ability to fight infections are due to anticancer therapies [53]. In patients with periodontal disease under high-doses of chemotherapy, the infection could potentially contribute to the destruction of connective tissue and bone [40]. In addition, the immune system (innate and adaptive) during the chemotherapy is impaired, increasing the susceptibility for infections that can lead to systemic complications [61]. Chemotherapy can cause an overall change in the oral microflora to a more pathogenic one, characterized by Gram-negative anaerobic bacteria [62].

In this study, criteria for periodontal risk of progression was used following the Lang and Tonetti [63]. It was observed that patients without cancer and periodontal disease (PD) have a lower risk of disease progression after ninety days of scaling and root planning when compared to the group of cancer with periodontitis (CAN-PC). Also, it was observed that the group with cancer exhibits a higher frequency of residual pockets than the PC group. Residuals pockets influence the progression of the disease and tooth loss during periodontal maintenance therapy [64, 65].

It is important to note that, even performing procedures of scaling and root planning immediately before chemotherapy, and thus without time for periodontal tissues to recover, despite of some residual pockets, no patient had episodes of acute exacerbation. This means that periodontal treatment and the measures taken to improve oral hygiene contributed to reducing the incidence of gingival or periodontal abscesses. Scaling and root planning procedures are fundamental in cancer patients by reducing the number of oral bacteria [66].

To date, this is the first study to evaluate the effect of periodontal treatment and monitor systemic conditions in patients with breast cancer under chemotherapy treatment.

CONCLUSION

The results of this study have failed to detect the association between periodontal disease and cancer. The periodontal treatment reduces the inflammatory markers of gingivitis and periodontitis and the hematological markers, however, this reduction is more pronounced in patients without cancer, showing that the disease and/or the chemotherapy impair the inflammatory control.

References

1. Michaud DS, Liu Y, Meyer M, Giovannucci E, Joshipura K. (2008) Periodontal disease, tooth loss, and cancer risk in male health professionals: a prospective cohort study. *Lancet oncology* 9: 550-558.
2. Soskolne WA, Klinger A (2001) The relationship between periodontal disease and diabetes: *Ann periodontol* 6:91-98.
3. Williams RC, Offenbacher S (2000) Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol* 2000, 23: 9-12.
4. Van dyke, TE.; van Winkelhoff, A.J (2013) Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 40:1-7.
5. Tonetti MS, Van Dyke TE (2013) Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases *J Periodontol* 84: S24-S9.
6. Holtfreter B, Empen K, Gläser S, Lorbeer R, Völzke H, Ewert R, Kocher T, Dörr M. (2013) Periodontitis Is Associated with Endothelial Dysfunction in a General Population: A Cross-Sectional Study. *PLoS ONE* 8(12): e 84603.
7. Jung YS, Shin MH, Kim IS, Kweon SS, Lee YH, Kim OJ, Kim YJ, Chung HJ, Kim OS (2014) Relationship between periodontal disease and subclinical atherosclerosis: The Dong-gu study. *J Clin Periodontol* 41: 262–268.
8. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S (2013) Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol* 84:170-180
9. Sanz M, Kornman K (2013) Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol* 84:164-169.

10. Arora N, Papapanou PN, Rosenbaum M, Jacobs DR Jr, Desvarieux M, Demmer RT. Periodontal Infection, Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance: Results from The Continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2010. *Journal Clin Periodontology* Apr 8. doi: 10.1111/jcpe.12258.
11. Stankoa P, Izakovicova L. Holla (2014) A review. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 158:35-38.
12. Barros SP, Suruki R, Loewy ZG, Beck JD, Offenbacher S (2013) A Cohort Study of the Impact of Tooth Loss and Periodontal Disease on Respiratory Events among COPD Subjects: Modulatory Role of Systemic Biomarkers of Inflammation. *PLOS ONE* 8(8): e68592.
13. Khantisopon N, Louthrenoo W, Kasitanon N, Sivasomboon C, Wangkaew S, Sang-In S, Jotikasthira N, Bandhaya P (2014). *International Journal of Rheumatic Diseases*. Feb 28. doi: 10.1111/1756-185X.12315.
14. Hujoel PP1, Drangsholt M, Spiekerman C, Weiss NS. (2003). An exploration of the Periodontitis- Cancer Association *AEP* 13: 312 – 316.
15. Fitzpatrick Sarah G, Joseph Katz (2010) The association between periodontal disease and Cancer: A review of the literature. *Journal Of dentistry* 38: 83-95.
16. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D (2000) Infections as a major preventable cause of human Cancer. *J Intern Med* 248:171-183.
17. Söder B, Yakob M, Meurman JH, Andersson LC, Klinge B, Söder PÖ (2011) Periodontal disease may associate with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 127: 497–502.
18. Pendyala, G. Joshi S, Chaudhari S, Gandhage D (2013) Links demystified: Periodontitis and cancer. *Journal Dental Research* 10:704-712.
19. Socransky SS, Haffajee AD (2002) Dental biofilm: difficult therapeutic targets *Periodontol* 2000. 28:12-55.
20. Kornman, K. S.; Page, R. C.; Tonetti, M. S. (1997) The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000 14:33-53.
21. Rosania AE, Low KG, McCormick CM, Rosania DA. (2009) Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *J Periodontol* 80: 260-266.
22. Huang, S., Lu, F., Zhang, Z., Yang, X., Chen, Y (2011) The role of psychologic stress-induced hypoxia-inducible factor-1 α in rat experimental periodontitis. *J Periodontol* 82: 934–41.

-
23. Naves R.C., Texeira de Freitas C.O., Barbosa M., Tunes U (2008) Serum levels of C-reactive protein in patients with periodontal disease. *Revista Periodontia – Setembro 2008 – Vol 18 - Nº 03.*
 24. Sonis, S.T.; Fazio, R.C.; FANGL. *Princípios e prática de medicina oral.* 2. ed. Rios de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 491 p.
 25. Franco De conno, MD, Carla Ripamonti, MD, Alberto Sbanotto, MD and Vittorio Ventafridda, MD (1989) *Journal of pain and symptom Management* vol.4 No. 1
 26. Singh N, C. Scully and S. Joyston – Bechal (1996) Oral complications of cancer therapies: Prevention and management *Clinical Oncology* 8: 15- 24.
 27. Kroetz FM, Czulniak GD (2003) alterações bucais e condutas terapêuticas em pacientes infanto- juvenis submetidos a tratamentos anti-neoplásicos *Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa* 9: 41-48.
 28. Mendonça, Elismauro Francisco de Carneiro, Luciano Sandoval et al (2005) Oral complications of chemotherapy and radiotherapy in cancer treatment. *Rev ABO nac.*13:151-157.
 29. Rutkauskas J. S., Davis J W (1993) Effects of chlorhexidine during immunosuppressive Chemotherapy. *Oral Surgery Oral medicine Oral Pathology* 76:441-8.
 30. Köstler WJ, Hejna M, Wenzel C, Zielinski CC (2001) Oral mucositis complicating chemostherapy and /or radiotherapy options for prevention and treatment.*CA Cancer J.Clinic, New York* 51: 290-315.
 31. Hespanhol FL, Tinoco EM, Teixeira HG, Falabella ME, Assis NM. (2010) Bucal Manifestations in patients submitted to chemotherapy. *Ciencia & saude coletiva* 15: 1085-1094.
 32. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.*, 4:1-6, 1999
 33. O’Leary TJ, Drake RB, Naylor JE (1972) The plaque control record. *J Periodontol* 43:38.
 34. Ainamo, J & Bay (1975) Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal* 25:229- 235.
 35. BASS, C.C. (1954) An effective method of personal oral hygiene. Part I. - *J. Lo. Med. Soc.*; 106:57-73.
 36. Meyer MS. Kaumudi Joshipura, Edward Giovannucci, Dominique S. Michaud (2008) A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease and cancer.*Cancer Causes Control* 19:895-907.

37. National Cancer Institute (1990) Consensus Statement: Oral complication of cancer therapies. National Institutes of Health Consensus Development Panel NCI Monogr., Washinton DC 9: 3-8
38. Epstein JB, Chow AW (1999) Oral complications associated with immunosuppression and cancer therapies. *Infectious Disease Clinics of North America* 13: 901-923.
39. Epstein J.B, Stevenson – Moore P (2001) periodontal disease and periodontal management in patients with cancer. *Oral oncology* 37 (8): 613-619.
40. Raber-Durlacher JE, Epstein JB, Raber J, van Dissel JT, van Winkelhoff AJ, Guiot HF, van der Velden U. (2002) Periodontal infection in cancer patients treated with high-dose chemotherapy. *Support Care Cancer* 10:466–473.
41. Ebersole JL1, Machen RL, Steffen MJ, Willmann DE. (1997) Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol* 107: 347-352.
42. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. (2000) Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol.* 71:1528-34.
43. D’Aiuto F, Ready D, Tonetti MS. (2004) Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodontal Res* 39: 236-241.
44. Gomes-Filho IS1, Freitas Coelho JM, da Cruz SS, Passos JS et al (2011) Chronic periodontitis and C Reactive Protein Levels, *J. Periodontol.* 82: 969-978.
45. Hong T, Liu A, Cai D, Zhang Y, Hua D, Hang X, Wu X. (2013) Preoperative serum C-reactive protein levels and early breast cancer by BMI and menopausal status. *Cancer Invest.* 31:279-85.
46. Guo YZ, Pan L , Du CJ , Ren DQ , Xie XM (2013) Association between C-reactive protein and risk of cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Asian Pacific J Cancer.* 14:243-8.
47. Lindhe, J. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*, 3º ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999.
48. Dale, B. A. (2002) Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. *Periodontology* 2000, 30:70-78.
49. Loos BG. (2005) Systemic Markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol.* 76 :2106-15.
50. Kweider M1, Lowe GD, Murray GD, Kinane DF, McGowan DA. (1993) Dental disease, fibrinogen and white cell count; links with myocardial infarction? *Scott Med J* 38:73-74.

-
51. Al-Rasheed A. (2012) Elevation of white blood cells and platelet counts in patients having chronic periodontitis. *Saudi Dent J.* 24:17-21.
 52. Amodio, J. (2014) Effects of breast cancer and its treatment on the periodontium. These, postmenopausal women, thesis, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo.
 53. Broughton Ii, G.; Janis, J.; Attinger, C. (2006) Wound Healing: An Overview. *Plastic Reconstruction Surgery* 117:1-32.
 54. Singh N1, Scully C, Joyston-Bechal S. (1996) Oral complications of cancer therapies: Prevention and management *Clinical Oncology* 8: 15- 24.
 55. McGuire, Altomonte, V., Peterson, D.E., Wingard, J.R. Jones. R.J., Grochow. LB. (1993) Patterns of mucositis and pain in patients receiving preparative chemotherapy and bone marrow transplantation. *Oncology Nursing Forum* 20:1493-1502.
 56. Barker, G.J. (1999). Current practices in the oral management of the patient undergoing chemotherapy or bone marrow transplantation. *Supportive Care in Cancer* 7: 17-20.
 57. Mattila K, Vesanen M, Valtonen V, Nieminen M, Palosuo T, Rasi V, Asikainen S. (2002) Effect of treating periodontitis on C-reactive protein levels: A pilot study. *BMC Infect Dis* 2: 30-32.
 58. Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF (2003) Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol* 30: 334-340.
 59. Christan C, Dietrich T, Hagewald S, Kage A, Bernimoulin JP. (2002) White blood cell count in generalized aggressive periodontitis after non-surgical therapy. *J Clin Periodontol* 29: 201-206.
 60. Rastogi P, Singhal R, Sethi A, Agarwal A, Singh VK, Sethi R. (2012) Assessment of the effect of periodontal treatment in patients with coronary artery disease: A pilot survey. *Journal of Cardiovascular Disease Research* 3: 124-127
 61. Hajishengallis G. (2014) Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in Immunology* 35:3-11.
 62. Napeñas JJ1, Brennan MT, Bahrani-Mougeot FK, Fox PC, Lockhart PB. (2007) Relationship between mucositis and changes in oral microflora during cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 103:48-59.
 63. Lang NP1, Tonetti MS (2003) Periodontal Risk Assessment for Patients in Supportive Periodontal Therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent.* 1:7-16.

64. Beck JD, Sharp T, Koch GG, Offenbacher S. (1997) A study of attachment loss patterns in survivor teeth at 18 months, 36 months and 5 years in community dwelling older adults. *J Periodont Res.* 32:497-505.
65. Matuliene G1, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, Lang NP (2008) Influence of residual pocket on progression of periodontitis and tooth loss: result after 11 years of maintenance *Journal of clinical periodontology.* 35: 685-695.
66. American Academy of Periodontology (1997) Committee on research, science and therapy. *J Periodontol* 68: 791- 801.

Figure Legends

Figure 1 - Mean and standard deviations of PD, CAL , PI, IG , CRP and Neutrophils in groups H, CAN, PC , CAN /PC at baseline (*) analysis of variance followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.05$; (**) ANOVA followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.01$, (***) ANOVA followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.001$.

Figure 2 - Means of PD, CAL (mm), PI, GI (%) , CRP (mg/dL) and neutrophils (%) in groups H, CAN, PC, CAN/PC at baseline and 45 and 90 days after therapy periodontal (RAR and supragingival prophylaxis) , and the results of intra-and intergroup comparisons. *Significant difference when compared to the value obtained at baseline (ANOVA two criteria followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.05$ (A, B) * Significant difference when compared to the baseline value in the same experimental group (Friedman test, $p < 0.05$) (C,D); § significant difference between experimental groups in the same analysis time (Mann Whitney, $p < 0.05$) (D), * significant differences when compared to the baseline value in the same experimental groups (ANOVA $p < 0.05$ (E) $p < 0.01$ (A)).

Figure 3 - Average reduction of probing depth (mm), percentage of pockets residuals in DP and CAN/PC groups and risk of progression of the periodontal patient level, 90 days after scaling and root planning compared to values obtained at baseline disease. * Significant difference between groups (unpaired t test, $p < 0.05$) (A, B), * Significant difference between groups in the low risk category (Chi- square, $p < 0.05$) (C).

Figure 1. Means and standard deviations of PPD, CAL, PI, GI, PCR and Neutrophils in groups H, CAN, PC, CAN / PC at baseline (*) analysis of variance followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.05$; (**) ANOVA followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.01$, (***) ANOVA followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.001$.

Figure 2. Ratings of PD, CAL (mm), PI, GI (%), CRP (mg/dL) and neutrophils (%) in groups H, CAN, PC, CAN/PC at baseline and 45 and 90 days after therapy periodontal (RAR and supragingival prophylaxis), and the results of intra-and intergroup comparisons. * significant difference when compared to the value obtained at baseline (ANOVA two criteria followed by Bonferroni post hoc test, $p < 0.05$ (A, B) * significant difference when compared to the baseline value in the same experimental group (Friedman test, $p < 0.05$) (C, D); § significant difference between experimental groups in the same analysis time (Test Mann Whitney test, $p < 0.05$) (D), * significant difference compared to the baseline value in the same experimental group (ANOVA test: $p < 0.05$ (E) and $p < 0.01$ (F))

Figure 3. Overall reduction of probing depth (mm), percentage of pockets residuals in PC and CAN / PC groups and risk of progression of the periodontal patient level, 90 days after scaling and root planning compared to values obtained at baseline disease. * Significant difference between groups (unpaired t test, $p < 0.05$) (A, B), * Significant difference between groups in the low risk category (Chi-square, $p < 0.05$) (C).