

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
Programa de Pós-graduação em Odontologia (Periodontia)

CATARINA MARTINS TAHIM

**Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos
cardiovasculares agudos e sepse.**

Ribeirão Preto
2022



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
Programa de Pós-graduação em Odontologia (Periodontia)**

CATARINA MARTINS TAHIM

**Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos
cardiovasculares agudos e sepse.**

Ribeirão Preto

2022

CATARINA MARTINS TAHIM

**Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos
cardiovasculares agudos e sepse.**

Versão corrigida

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Odontologia da Faculdade de odontologia de
Ribeirão Preto para obtenção do título de
Doutora em Odontologia.

Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Mário Taba Jr.

Ribeirão Preto

2022

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.

Catálogo da Publicação

Biblioteca Central do Campus USP Ribeirão Preto

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Tahim, Catarina Martins.
Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos cardiovasculares agudos e sepse. / Catarina Martins Tahim; orientador Mário Taba Jr. – Ribeirão Preto, 2022. 152f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2022.

1. Periodontite. 2. Tratamento periodontal. 3. Sepse. 4. Doenças cardiovasculares.

TAHIM, C. M. Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos cardiovasculares agudos e sepse.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de odontologia de Ribeirão Preto para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Área de concentração: Periodontia.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico todo o meu trabalho,

A Deus,

Por ter sido minha força espiritual em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis. A tua palavra é sempre um conforto e uma motivação.

Aos meus pais,

Por sempre terem priorizado a educação em nossa casa. Por não terem medido esforços para que meus sonhos profissionais fossem realizados. Obrigada por apoiarem minhas escolhas. À minha mãe, obrigada por mesmo longe, estar sempre disponível para me ajudar com a Maria Júlia. Muita coisa só foi possível de ser realizada porque tive seu apoio incondicional. Amo vocês.

Às minhas irmãs,

Por existirem. Por serem minhas melhores amigas. Mesmo distantes, sempre me apoiando, me ouvindo e aconselhando. Obrigada por fazerem parte de mais essa conquista.

À Tiça,

Por ter aceitado o desafio de passar pouco mais de um ano conosco em Ribeirão Preto, longe da sua família, para nos ajudar com a Maria Júlia. Com o mesmo carinho que cuidou de meu esposo na infância, cuidou da nossa filha. Serei eternamente grata.

À Maria Júlia,

Ao maior amor da minha vida, sempre presente em todos os momentos importantes, tudo que eu faço é por você. Obrigada por chegar exatamente quando eu mais precisava. Amo você infinitamente minha filha.

Ao meu esposo,

Por ser meu melhor amigo, me apoiar em todas as minhas escolhas profissionais e ter paciência em me ensinar estatística. Os anos que passamos em Ribeirão Preto não foram fáceis. Foram noites em claro, incertezas, a escolha da primeira escola, nossa qualificação do doutorado, aulas de inglês no único dia de descanso que tínhamos.... Ainda assim, faria

tudo de novo sem pensar duas vezes pois sei que sempre terei você como meu companheiro, amigo, professor, namorado. Amo você. O pós-doutorado nos espera.

Agradecimientos

Agradeço,

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mário Taba, toda minha gratidão por ter me aceitado como sua orientanda, pelas oportunidades dadas ao longo do curso, pela imensa paciência e compreensão que teve comigo até os minutos finais dessa jornada. Lembro até hoje de um conselho que o senhor deu aos “Desorientandos do Taba”: “Quanto menos me procurarem menos eu vou agir”. E é assim que o senhor nos orienta, incentivando que busquemos nossas respostas, que façamos sempre o melhor. Professor Mário, o senhor mudou a maneira como eu enxergo a odontologia. Obrigada.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em periodontia, *Daniela Bazan Palioto Bulle, Flávia Ap. Chaves Furlaneto Messori, Michel Reis Messori, Sérgio Luís Scombatti de Souza e Arthur Belém Novaes Jr.* pelo conhecimento compartilhado ao longo dos anos de pós-graduação. Ao *Prof. Sérgio*, na época coordenador do Programa de Pós-graduação em periodontia, pelos ensinamentos na periodontia clínica e cirúrgica. Às *Professoras Daniela e Flávia*, pela empatia e disponibilidade com que sempre me receberam; vocês são inspiração. Ao *Prof. Michel Messori* por acreditar em mim no meu primeiro semestre enquanto muitos achavam que eu iria desistir e não ia conseguir. Lembro de cada palavra que o senhor me falou na nossa última apresentação dos seminários de literatura clássica. Serei eternamente grata.

À *Professora Simone Cecilio Hallak Regalo*, pela empatia, educação e paciência com a qual me orientou e esclareceu as dúvidas no começo da minha jornada junto ao Comitê de Ética da Faculdade.

Aos meus amigos do doutorado, *Natacha Malu, Felipe Torres, Luís Fernando e Sérgio Lago*, pelos anos que compartilhamos na pós-graduação. Em especial ao Felipe Torres que mesmo com todas as suas obrigações, sempre se mostrou disponível a me ajudar, por compartilhar sua experiência nos trâmites institucionais.

Aos meus colegas de pós-graduação, *Renata Campos, Cristhian Martinez, Pedro Félix, Kleber Suzuki, Uislen Cadore e Marília Reis*. Com vocês compartilhei anos mais desafiadores. Obrigada *Má Reis e Kleber*, por terem muitas vezes sido meus orientadores clínicos, aprendi muito com vocês. *Pedro*, obrigada por dividir seu conhecimento comigo.

À técnica **Milla Sprone**. Você foi minha professora, amiga, conselheira, ouvinte. Só tenho a lhe agradecer por tudo que me ensinou e por todas as nossas conversas; fez tudo parecer mais leve.

Aos técnicos de laboratório **Fabíola Singaretti e Roger Fernandes**, pela disponibilidade e educação com a qual sempre me atenderam quando necessitei.

Às secretarias da pós-graduação **Aparecida Dulce de Oliveira Negreti, Carla Daniela Lima da Silva** e especialmente **a Maria Isabel Simonetti**, pela educação e respeito de sempre, pelas orientações e lembretes dos meus deveres a serem cumpridos. Tenho ciência que muito do que você fez por mim não era sua obrigação e eu lhe agradeço e sempre vou lhe agradecer.

À **Mary Possani Carmessano**, pelas orientações ao longo do curso, especialmente no meu período de licença maternidade.

À **Daniela Steter Martins**. Minha querida Dani, você é única. Uma grande amiga que fiz durante os meus anos em Ribeirão Preto, fazia a rotina puxada da clínica e das pesquisas parecer mais leve. Nos momentos difíceis, que não foram poucos, você sempre estava lá para me animar, ter força para continuar. Não tenho dúvidas que você foi enviada por Deus para cruzar meu caminho. Muito obrigada e saudades!

À **Dra Rosimeire de Lordo Franco Gobbo**, por todo conhecimento compartilhado nas nossas quartas de Periomed. Pelas conversas e conselhos, pelas experiências de maternidade compartilhadas. Muito obrigada.

Aos meus amigos João Paulo Martins e Luciana Mara, por me apoiarem nas minhas loucuras todos esses anos. **Tia Lu**, você nem imagina o quanto eu lhe amo! Obrigada por literalmente segurar as pontas enquanto eu estava longe. Obrigada por nossa amizade que só se fortalece, pela nossa parceria profissional.

À **Janini Rosas**, minha amiga, colega de trabalho, minha chefe. Obrigada por estar sempre disponível, mesmo com as mil obrigações a cumprir. Por possibilitar que eu conseguisse finalizar o Doutorado com um mínimo de juízo.

Aos **meus pacientes**, pela confiança depositada em meu trabalho e por contribuírem com o desenvolvimento da ciência. Sem a participação deles eu não teria conseguido finalizar esse projeto.

Aos **alunos de graduação**, pelo acolhimento e por terem feito parte do meu crescimento acadêmico no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP)**, por ter me acolhido durante a pós-graduação. Tive oportunidades únicas na instituição, cursos internacionais, treinamentos e participação como voluntária em pesquisas.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES**, pelo suporte financeiro para execução desse estudo. Tive muita sorte de ter um projeto contemplado e ter tido auxílio financeiro em um período em que a educação em nosso país não vem tendo sua devida importância.

Epígrafe

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.

Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

Resumo

RESUMO

TAHIM, C. M. **Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos cardiovasculares agudos e sepse**. 2022. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2022)

Existem evidências ligando o aumento do risco de doença cardiovascular em pacientes com periodontite e que o tratamento periodontal induz uma resposta inflamatória sistêmica de curto prazo. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento periodontal realizado em duas modalidades diferentes sobre o risco de eventos cardiovasculares agudos e sepse por meio do monitoramento de biomarcadores específicos. Trinta e quatro pacientes diagnosticados com periodontite foram alocados aleatoriamente em um dos dois grupos experimentais: desbridamento por quadrantes (QD) ou desbridamento de boca completa (FMD). Os parâmetros clínicos periodontais e de saúde geral foram registrados no *baseline* e após 45 dias. Amostras de soro foram coletadas antes do tratamento periodontal não cirúrgico (TPNC), 24 (T2) e 48 horas (T3) após TPNC para copeptina (COP), peptídeo natriurético cerebral (BNP), porção N-terminal do peptídeo natriurético cerebral (NT-proBNP), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), procalcitonina (PCT) e proteína c reativa (PCR). Todos os parâmetros periodontais melhoraram aos 45 dias em ambos os grupos. A expressão de IL-6 e TNF- α aumentou significativamente nas primeiras 48 horas. COP não foi detectado na maioria dos pacientes. Para ambos os grupos, os níveis de BNP e NT-proBNP reduziram nas primeiras 48 horas sem diferença significativa entre os períodos experimentais e com maior redução no grupo FMD. Embora consistente com bacteremia, inflamação e dano tecidual, os dados não demonstraram uma associação direta entre os valores de PCT e os parâmetros clínicos ($p > 0.05$) e nem aumento da expressão de biomarcadores específicos de eventos cardiovasculares agudos em pacientes sistemicamente saudáveis com diagnóstico de periodontite. Dentro dos limites do estudo, pode-se concluir que o tratamento periodontal, independente da modalidade utilizada (QD ou FMD), mesmo induzindo a uma resposta inflamatória de curto prazo, é seguro de ser realizado em pacientes sistemicamente saudáveis com periodontite, não os colocando em uma faixa de risco de sepse e eventos cardiovasculares agudos nas primeiras 48 horas após o TPNC.

Palavras-chave: periodontite; tratamento periodontal; doenças cardiovasculares; sepse; biomarcadores.

Abstract

ABSTRACT

TAHIM, C. M. **Systemic effect of periodontal therapy on risk markers of acute cardiovascular events and sepsis**. 2022. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2022)

There is evidence linking increased risk of cardiovascular disease in patients with periodontitis and that periodontal treatment induces a short-term systemic inflammatory response. This study aimed to evaluate the effect of periodontal therapy performed in two different modalities on the risk of acute cardiovascular events and sepsis by monitoring specific biomarkers. Thirty-four patients diagnosed with periodontitis were randomly allocated to one of two experimental groups: quadrant debridement (QD) or full-mouth debridement (FMD). Periodontal clinical and general health parameters were recorded at baseline and after 45 days. Serum samples were collected before nonsurgical periodontal treatment (NSPT), at 24 (T2), and 48 hours (T3) after TPNC for copeptin (COP), brain natriuretic peptide (BNP), N-terminal portion of brain natriuretic peptide (NT-proBNP), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), procalcitonin (PCT) and c-reactive protein (PCR). All periodontal parameters improved at 45 days in both groups. The expression of IL-6 and TNF- α significantly increased in the first 48 hours. COP was not detected in most patients. For both groups, the BNP and NT-proBNP reduced in the first 48 hours with no significant difference between the experimental periods and a greater reduction in the FMD group. Although consistent with bacteremia, inflammation, and tissue damage, the data did not demonstrate a direct association between PCT values and clinical parameters ($p > 0.05$). The data did not show an increased expression of specific biomarkers for acute cardiovascular events in systemically healthy patients diagnosed with periodontitis. Within the limits of the study, it can be concluded that periodontal treatment, regardless of the modality used (QD or FMD), even inducing a short-term inflammatory response, is safe to be performed in systemically healthy patients with periodontitis, not placing them in a range of risk for sepsis and acute cardiovascular events in the first 48 hours after NSPT.

Keywords: periodontitis; periodontal debridement; cardiovascular diseases; sepsis; biomarkers.

Lista de figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estudos que avaliaram as concentrações de BNP e NT-proBNP em pacientes com periodontite.....	37
Figura 2- Alterações fisiopatológicas na sepse por infecção. A liberação de moléculas de PAMP/DAMP ativa as células imunes que mediam respostas ao nível das proteínas plasmáticas e ao nível celular. Como consequência ocorrem alterações no suprimento de sangue e consumo de oxigênio levando à disfunção orgânica múltipla. Adaptado de (Pant <i>et al.</i> , 2021)	40
Figura 3- Estudos em humanos avaliando a presença de procalcitonina em pacientes com periodontite... ..	42
Figura 4- Fluxograma do estudo.....	56
Figura 5- Sequência de coleta de amostra por punção venosa e armazenamento das amostras.....	59

Lista de tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características demográficas da amostra no <i>baseline</i>	66
Tabela 2. Parâmetros clínicos periodontais ao longo do tempo.....	66
Tabela 3. Níveis sistêmicos de biomarcadores ao longo do estudo nos Grupos QD (n = 17) e FMD (n = 17)	68
Tabela 4. Níveis sistêmicos de citocinas (pg/ml) ao longo do estudo nos grupos QD (n = 17) e FMD (n = 17)	69
Tabela 5. Níveis sistêmicos de biomarcadores circulantes ao longo do estudo considerando toda a amostra (n=34)	70
Tabela 6. Correlação entre níveis séricos de NT-proBNP, biomarcadores e parâmetro clínico periodontal.....	70
Tabela 7. Correlações entre os valores iniciais (baseline) de PCT e PCR parâmetros clínicos periodontais.....	71

Lista de abreviaturas e siglas

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Academia Americana de Periodontia
ABC	Associação Brasileira de Cardiologia
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AHA	American Heart Association
AVP	Arginina vasopressina
BNP	Peptídeo natriurético cerebral
C.M.T.	Catarina Martins Tahim
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CAB	Circunferência abdominal
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CARE	Cholesterol and Recurrent Events
CDC	Centro Americano de Controle de Doenças
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CM	Enxaqueca crônica
CONSORT	Consolidated Standards of Reporting Trials
COP	Copeptina
CP	Periodontite crônica
D.S.G.	Diego de Sousa Guerra
DAMP	Padrões moleculares associados a danos
DBP	Vitamin D-binding protein
DCNT	Doença crônica não-transmissível
DCV	Doenças cardiovasculares
DP	Desvio-padrão
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FM-SRP	Terapia de raspagem e alisamento radicular
FMD	Desbridamento de boca completa
FMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
FMUD	Full-mouth ultrasonic debridement
FORP	Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
hs-CRP	Proteína reativa ultrasensível

IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
IDTs	Tratamentos dentários invasivos
IHO	Instrução de higiene oral
IL-1	Interleucina 1
Il-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
IP	Índice de placa
K.F.C.	Karine Figueredo da Costa
Kg/m ²	Kilograma por metro quadrado
LDH	Lactate dehydrogenase
M.S.T.	Mila Sprone Tavares
mg/L	Miligrama por litro
mm	Milímetro
mm	Milímetro
mm ²	Mimlímetro quadrado
mmHg	Milímetros de mercúrio
MMPs	Metaloproteinases
ng/dL	Nanograma por decilitro
ng/mL	Nanograma por mililitro
NIC	Nível de inserção clínica
NODs	Receptores Nod-like
NT-proBNP	Porção N-terminal do peptídeo natriurético cerebral
ORs	Odds ratios
<i>p</i>	<i>p</i> valor
PAMP	Padrão molecular associado ao patógeno
PCR	Proteína c reativa
PCT	Procalcitonina
pg/mL	Picograma por mililitro
PISA	Área de superfície periodontal inflamada
PRORATA	PROcalcitonina para reduzir tratamentos com antibióticos em pacientes com doença aguda
PS	Profundidade de sondagem

Q-SRP	Raspagem de quadrante e alisamento radicular
QD	Desbridamento por quadrantes
R	Coeficiente de correlação
SCA	Síndrome coronariana aguda
SS	Sangramento à sondagem
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TLRs	Receptores Toll-like
TMB	Reagente composto por 3,3',5,5-tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TPNC	Tratamento periodontal não-cirúrgico
UTI	Unidade de terapia intensiva
VCAM-1	Molécula de adesão de célula vascular-1
vs	Versus
μ L	microlitro
μ g/L	Micrograma por litro

Lista de símbolos

LISTA DE SÍMBOLOS

\leq	Menor ou igual que
(-)	Diminuição
(+)	Aumento
(=)	Não variação
%	Por cento
°C	Graus celsius
Δ	Delta; variação entre valores
<	Menor que
>	Maior que
α	alfa
\geq	Maior ou igual que
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico

Lista de anexos

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A- Parecer consubstanciado do comitê de ética.....	101
ANEXO B- Comprovante de financiamento do projeto de pesquisa.....	104
ANEXO C- Comprovante de submissão artigo 1.....	105
ANEXO D- Artigo 1 submetido ao periódico “ <i>Brazilian Oral Research</i> ” (Qualis Capes A2)	106
ANEXO E- Comprovante de submissão artigo 2.....	120
ANEXO F- Artigo 2 submetido ao periódico “ <i>Plos One</i> ” (Qualis Capes A1)	121

Lista de apêndices

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A- Termo de consentimento livre e esclarecido.....	147
--	-----

Sumário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	33
1.1 Periodontite: etiopatogenia e sua relação com doenças cardiovasculares	33
1.2 Periodontite e sepse	40
1.3 Tratamento periodontal	48
2. JUSTIFICATIVA	51
3. PROPOSIÇÃO	53
3.1 Objetivos gerais	53
3.2 Objetivos específicos	53
4. MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 Aspectos éticos	55
4.2 Cálculo do tamanho da amostra	55
4.3 Seleção dos pacientes	56
4.4 Delineamento do estudo	57
4.5 Coleta das amostras	59
4.6 Calibração do examinador	59
4.7 Avaliação periodontal	60
4.8 Tratamento periodontal não-cirúrgico	61
4.9 Terapia periodontal de suporte	61
4.10 Processamento das amostras	62
4.11 Análise estatística	63
5. RESULTADOS	66
5.1 População do estudo e parâmetros clínicos periodontais	66
5.2 Avaliação dos biomarcadores	68
6. DISCUSSÃO	74
7. CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS	
ANEXOS	
APÊNDICES	

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória que se inicia a partir de um biofilme disbiótico (Roberts e Darveau, 2015). A interação desequilibrada entre o microbioma local e a resposta inflamatória do hospedeiro leva à degradação dos tecidos periodontais de suporte (Hajishengallis e Chavakis, 2021) como resultado da expressão descontrolada de citocinas e ativação enzimática (Kurgan e Kantarci, 2018). O caráter crônico e a progressão lenta presente na maioria dos casos resultam em mobilidade dentária, prejuízos na função mastigatória, insatisfação estética e, quando não tratada, na perda do dente (Papapanou *et al.*, 2018; Loos e Van Dyke, 2020).

No levantamento epidemiológico mais recente, estima-se uma média de 1,1 bilhão de casos graves de periodontite em todo o mundo e o maior número de casos na faixa etária de 40 a 49 anos (Chen *et al.*, 2021). Na América Latina, as manifestações mais severas de periodontite acometem de 7.8 a 25.9% da população adulta (Romito *et al.*, 2020) e, no Brasil, dados de 2010 reportaram que a prevalência de profundidades de sondagem ≥ 4 mm na faixa etária de 35 a 44 anos foi de 19.4% (Oppermann *et al.*, 2015). A alta prevalência gera um impacto direto na autoestima dos indivíduos acometidos, além de elevar os gastos em saúde pública (Jin *et al.*, 2016). Considerada uma doença crônica não-transmissível (DCNT), assim como doenças cardiovasculares, câncer, doenças respiratórias crônicas e diabetes, a periodontite é um problema de saúde pública e uma das maiores causas de perda da dentição, impactando na qualidade de vida (Gamonal *et al.*, 2020).

1.1 Periodontite: etiopatogenia e sua relação com doenças cardiovasculares

A interação entre o biofilme disbiótico e a resposta imunológica do hospedeiro pode resultar, em indivíduos susceptíveis na destruição progressiva dos tecidos periodontais (Hajishengallis, 2015). A colonização microbiana que naturalmente ocorre na cavidade bucal sofre influência de hábitos alimentares, estágios da dentição, práticas de higiene oral, estilo de vida e presença de alterações sistêmicas. Havendo equilíbrio entre essas interações, a saúde periodontal é mantida. Quando há um desequilíbrio desses processos, podemos ter o desenvolvimento de periodontite (Kumar, 2017). O epitélio ulcerado da bolsa periodontal favorece a invasão bacteriana e o fluxo aumentado de células de defesa, levando a um dano inflamatório aos tecidos e destruição do osso alveolar. Além disso, produtos do metabolismo

bacteriano, mediadores inflamatórios e bactérias viáveis podem cair na corrente sanguínea e transportadas a sítios distantes. Uma vez na circulação sistêmica, esses mediadores têm o potencial de afetar negativamente uma grande variedade de doenças sistêmicas, tanto diretamente *in situ* ou indiretamente através da amplificação da resposta inflamatória sistêmica (Konkel *et al.*, 2019).

O principal mecanismo responsável pela destruição observada na periodontite é consequência de uma resposta imune hiperativa (Hajishengallis, 2014; Bartold e Van Dyke, 2017; Loos e Van Dyke, 2020). Assim, as reações inflamatórias excessivas e desreguladas contribuem para as alterações disbióticas como, por exemplo, a hiperfuncionalidade de neutrófilos polimorfonucleares, contribuindo para a destruição dos tecidos periodontais (Bartold e Van Dyke, 2017; Loos e Van Dyke, 2020). Tais células liberam níveis elevados de enzimas responsáveis pela degradação de colágeno, além de espécies reativas de oxigênio, causando danos aos tecidos. Essa liberação de enzimas atua como um estímulo adicional à liberação e produção de mediadores pró-inflamação, como citocinas e quimiocinas, que vão contribuir para a manutenção da inflamação (Loos e Van Dyke, 2020).

A periodontite possui fatores de risco em comum com outras doenças crônicas como as doenças cardiovasculares que incluem a idade, gênero, condição socioeconômica, diabetes, obesidade, fumo e hipertensão arterial (Friedewald *et al.*, 2009; Simão *et al.*, 2014). Essa associação entre a periodontite e DCV foi listada em estudos prospectivos onde indivíduos com periodontite apresentaram em média um risco 15% maior de desenvolver doenças cardiovasculares (Bahekar *et al.*, 2007). Essa relação já é estabelecida na literatura e embora não completamente elucidada, pode ser explicada em parte pelo fato de ambas as patologias estarem relacionadas a um processo inflamatório. Além disso, na periodontite há uma elevação da quantidade de mediadores inflamatórios na circulação sanguínea e as bactérias que desencadeiam a periodontite também estimulam uma resposta sistêmica, favorecendo eventos pré-trombóticos, a dislipidemia e, conseqüentemente aumentam o potencial de formação de placas ateromatosas e eventos cardiovasculares agudos (Bahekar *et al.*, 2007; Schenkein e Loos, 2013; Hajishengallis e Chavakis, 2021).

Doenças inflamatórias crônicas são condições complexas, não possuem um único fator etiológico, mas múltiplos componentes causais que interagem entre si, muitas vezes de maneira imprevisível (Loos e Van Dyke, 2020). Ou seja, a doença é o fruto de interações complexas entre fatores genéticos, epigenéticos, meio-ambiente, comunidades microbianas (biofilmes) e a resposta do hospedeiro, o que é difícil de explicar apenas por alguns fatores individuais (Hu *et al.*, 2016).

De forma geral, os mecanismos que ligam a periodontite à outras doenças sistêmicas são consistentes com estudos associando periodontite à bacteremias, baixo grau inflamação sistêmica, aumento da atividade mielopoiética e da capacidade do tratamento periodontal local em reduzir marcadores inflamatórios sistêmicos (Teles e Wang, 2011; D'aiuto *et al.*, 2018). Um estudo coorte envolvendo um milhão de indivíduos evidenciou a relação entre uma saúde bucal deficiente e um maior risco de doenças cardíacas (Batty *et al.*, 2018). O principal achado do estudo foi uma associação significativa entre perda dentária (sete ou mais dentes) com eventos cardiovasculares, especialmente em pacientes fumantes, independente do gênero (Batty *et al.*, 2018).

Adicionalmente, a periodontite está associada a níveis elevados de marcadores de inflamação na circulação sanguínea, dentre eles a interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e proteína C-reativa (PCR) (Fuster, 1994; Danesh *et al.*, 2000; Hulthe e Fagerberg, 2002; Danesh *et al.*, 2004; Libby, 2006). Níveis elevados de marcadores inflamatórios também estão relacionados a doenças sistêmicas, como DCV (Beck e Offenbacher, 2005; Hosomi *et al.*, 2012; Zeng *et al.*, 2016; Van Dyke *et al.*, 2021), o que torna a mensuração de tais biomarcadores foco de grande interesse de diagnóstico e prognóstico (Chan e Ng, 2010).

Estudos prospectivos mostram que a IL-6 é um potente biomarcador para DCV e que há um maior risco de eventos vasculares em associação a níveis aumentados de IL-6 e TNF- α (Ridker, Hennekens, *et al.*, 2000; Ridker, Rifai, *et al.*, 2000; Ikeda *et al.*, 2001; Volpato *et al.*, 2001). A IL-6 estimula a produção hepática de PCR além de regular a expressão de outras citocinas inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), metaloproteinases de matriz e TNF- α (Harris *et al.*, 1999). Da mesma forma, o aumento da PCR circulante também estimula a liberação de IL-1, IL-6 e TNF- α por parte de monócitos ativados, bem como a expressão de molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão de célula vascular-1 (VCAM-1) pelas células endoteliais (Pasceri *et al.*, 2001). Também a PCR ativa a via do complemento e induz a expressão do fator de coagulação, um potente pró-coagulante (Ikeda *et al.*, 2003; Touyz, 2003). Atualmente, a PCR é considerada um marcador do aumento da taxa de mortalidade por doença arterial coronariana e doenças renais crônicas (Pasceri *et al.*, 2001; Ikeda *et al.*, 2003; Mielniczuk *et al.*, 2009).

Com base na patogenia das DCV, os marcadores de inflamação também têm sido foco de grande interesse diagnóstico. Destacam-se: IL-6, TNF- α e PCR (Fuster, 1994; Danesh *et al.*, 2000; Hulthe e Fagerberg, 2002; Danesh *et al.*, 2004; Libby, 2006). Estudos epidemiológicos demonstraram um aumento do risco vascular em associação com o aumento dos níveis de IL-6 e TNF- α (Ridker, Hennekens, *et al.*, 2000; Ridker, Rifai, *et al.*, 2000; Ikeda *et al.*, 2001).

Segundo Souza e colaboradores, o aumento da concentração plasmática de IL-6 reflete tanto a vulnerabilidade da placa aterosclerótica quanto sua ruptura e está intimamente envolvida na patogênese da síndrome coronariana aguda (SCA) (Souza *et al.*, 2008).

Os primeiros dados que apontam a PCR como um promissor biomarcador surgiu no projeto Cholesterol and Recurrent Events (CARE). Este estudo mostrou que os níveis elevados de PCR circulante estão relacionados com o risco significativamente aumentado de doenças coronárias recorrentes (Ridker *et al.*, 1998). Já em 2002, A American Heart Association (AHA) e o Centro Americano de Controle de Doenças (CDC) recomendaram que os marcadores inflamatórios, especialmente a PCR e a IL-6, fossem utilizados como diagnóstico pré e pós-eventos coronarianos (Pearson *et al.*, 2003).

Esses marcadores inflamatórios também se mostraram importantes na associação entre periodontite e doenças cardíacas e vasculares como: o infarto agudo do miocárdio e de acidentes vasculares cerebrais (Taylor *et al.*, 2006; Floriano *et al.*, 2009; Marcaccini *et al.*, 2009). Pacientes com periodontite demonstram um aumento dos níveis sanguíneos de IL-6, TNF- α e PCR quando comparados com pacientes saudáveis (Floriano *et al.*, 2009; Marcaccini *et al.*, 2009; Nakajima *et al.*, 2010; Rastogi *et al.*, 2012; Koppolu *et al.*, 2013; Anitha *et al.*, 2015). Na mesma linha, alguns pesquisadores relatam que a bacteremia e a lesão tecidual causada pelo tratamento periodontal aumentam os níveis plasmáticos da IL-6, TNF- α e PCR (Ide *et al.*, 2004; Tonetti *et al.*, 2007; Marcaccini *et al.*, 2009; Rastogi *et al.*, 2012).

Outro biomarcador utilizado como diagnóstico de eventos cardiovasculares agudos é peptídeo natriurético cerebral (BNP). O BNP é um neuro-hormônio sintetizado no ventrículo e liberado na circulação em resposta à dilatação ventricular e sobrecarga de pressão na parede miocárdica (De Lemos *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004). O BNP e seu pro-hormônio NT-proBNP são considerados importantes no exame de prognóstico de DCV como a infarto agudo do miocárdio, angina instável e arritmias (Wang *et al.*, 2004; Ogawa *et al.*, 2006).

No coração saudável, o principal local de produção de BNP é nos cardiomiócitos atriais (Provan *et al.*, 2008) e condições normais, a concentração sérica é extremamente baixa (Loo *et al.*, 2012). Entretanto, durante uma insuficiência cardíaca e à medida que o coração falha, os programas gênicos fetais são ativados e o miocárdio ventricular esquerdo torna-se o principal local de produção de BNP, liberando o peptídeo em resposta à isquemia (Provan *et al.*, 2008; Loo *et al.*, 2012). Poucos estudos até o presente momento avaliaram a relação das concentrações de BNP e NT-proBNP com o diagnóstico de periodontite e o efeito do tratamento periodontal sobre as concentrações sistêmicas destes biomarcadores. Os estudos publicados até o momento estão enumerados na Figura 1.

Figura 1. Estudos que avaliaram as concentrações de BNP e NT-proBNP em pacientes com periodontite.

Autor	Tipo de estudo	Amostra	Crítérios de Diagnóstico Periodontal	Método	Resultados
(Loo <i>et al.</i> , 2012)	Observacional	Controle (n=108) Periodontite (n=44) Câncer (n=30)	Baseado na história odontológica pregressa, parâmetros clínicos e padrões radiográficos de perda óssea alveolar.	Follow up: não Tipo de amostra: Soro. Biomarcadores avaliados: P-selectina, CRP; troponina T; troponin I; NT-proBNP e Lactate dehydrogenase (LDH). Parâmetros clínicos: IP; SS; PS; NIC. Intervenção: nenhuma.	Os grupos teste demonstraram níveis mais elevados de marcadores inflamatórios e cardíacos do que o grupo controle.
(Czerniuk <i>et al.</i> , 2017)	Estudo clínico (piloto)	39 pacientes com insuficiência cardíaca congestiva; Grupo 1 (n=10): periodontite; determinação da concentração de NT-proBNP e TNF- α . Grupo 2 (n=19): periodontite; determinação da concentração de NT-proBNP; Grupo 3 (n=10): periodontite; determinação da concentração de TNF- α .	Não especificado.	Follow up: baseline, 3 e 9 meses. Tipo de amostra: Soro Biomarcadores avaliados: NT-proBNP e TNF- α Parâmetros clínicos: IP; SS; PS; NIC. Intervenção: Raspagem e alisamento coronaradicular; instrução de higiene oral em todos os grupos.	Pacientes com melhores índices de higiene oral tiveram menores valores de NT-proBNP e TNF- α .
(Dekker <i>et al.</i> , 2017)	Análise <i>a priori</i> dos dados de <i>baseline</i> de um estudo randomizado e controlado.	N= 75 Pacientes internados com diagnóstico primário ou secundário de insuficiência cardíaca.	O diagnóstico consistia em classificar a higiene oral em boa, mediana ou pobre.	Follow up: não. Tipo de amostra: Saliva; Soro. Biomarcadores avaliados: BNP, PCR, IL-6 e IL-10. Teste: ELISA; Biosite Triage® Parâmetros clínicos: higiene oral. Intervenção: nenhuma	Houve uma correlação moderada a forte para PCR soro-saliva, correlação fraca para IL-6 soro-saliva e nenhuma correlação para BNP e IL-10 soro-saliva. Inflamação oral visível foi o único preditor de pior função cardiovascular.
(Rathnayak e <i>et al.</i> , 2017)	Caso-controle	Idade: < 75 anos. 200 pacientes com infarto do miocárdio; 200 pacientes sem infarto;	Não descrito.	Follow up: não. Tipo de amostra: Saliva; Soro. Biomarcadores avaliados: cystatin C, GDF-15 e NT-proBNP. Teste: ELISA. Parâmetros clínicos: dentes presentes; alterações em tecido mole; cáries; exame periodontal (OS em 4 sítios por dente; SS; IP e perda óssea radiográfica). Intervenção: nenhuma	Os resultados para o NT-proBNP não foram apresentados. Os autores justificaram a ausência dos resultados pelo fato do NT-proBNP ter sido detectado em 65% das amostras de plasma, mas em menos de 50% das amostras de saliva, provavelmente pela sensibilidade do teste utilizado não ter sido suficiente para detectar baixas concentrações de NT-proBNP.

(Vedin <i>et al.</i> , 2017)	Observacional	Amostra: n= 15.828 pacientes de 39 países distintos; Pacientes com IAM prévio, revascularização coronariana prévia, cirurgia de revascularização do miocárdio ou doença coronariana multiarterial sem revascularização.	Baseado na perda de dentes.	Follow up: 3.7 anos. Tipo de amostra: Soro. Biomarcadores avaliados: NT-proBNP. Teste: ELISA. Parâmetros clínicos: dentes presentes; alterações em tecido mole; cáries; exame periodontal (OS em 4 sítios por dente; SS; IP e perda óssea radiográfica). Intervenção: nenhuma	Pacientes que relataram maior perda de dentes tiveram maiores níveis de NT-proBNP.
(Leira e Blanco, 2018)	Caso- controle	Amostra: n=80 Periodontite (n=40) Sem periodontite (n=40)	Baseado nos critérios do CDC/ Consenso da Academia Americana de Periodontia (CDC/AAP) para estudos epidemiológicos.	Follow up: não. Tipo de amostra: Soro. Biomarcadores avaliados: NT-proBNP e CRP ultra sensível. Teste: imunoenensaio de eletroquimioluminescência Parâmetros clínicos: PS, SS, PISA, NIC, número de dentes. Intervenção: nenhuma.	Níveis séricos de NT-proBNP aumentados nos pacientes com periodontite. Maior destruição periodontal, associada a maiores níveis de NT-proBNP no soro.
(Wang <i>et al.</i> , 2020)	Ensaio clínico randomizado	Amostra: n= 80 pacientes com periodontite e diabetes tipo 2. Grupo tratamento (n=29): TPNC Grupo controle (n=29): instrução de higiene oral.	Periodontite estágio III/ IV.	Follow up: não. Tipo de amostra: Soro. Biomarcadores avaliados: NT-proBNP, Il-6 e CRP ultra sensível. Teste: Elecsys ProBNP; Roche); ELISA e Cobas Integra 400 Plus, respectivamente. Parâmetros clínicos: dentes ausentes, IP, SS, PS, NIC. Intervenção: TPNC ou instrução de higiene oral. No grupo controle, O TPNC foi iniciado 6 meses após o estudo.	O TPNC resultou em níveis mais baixos, mas não significantes hs-CRP, IL-6 e NT-proBNP. Primeira evidência de que o TPNC pode melhorar a função diastólica cardíaca em pacientes diabéticos tipo 2 com periodontite.

1.2 Periodontite e sepse

A sepse é uma síndrome resultante da desregulação bioquímica e fisiopatológica desencadeada por fatores endógenos em resposta a infecções bacterianas, virais, parasitárias ou fúngicas (Singer *et al.*, 2016). Apresenta um alto índice de mortalidade quando não diagnosticada e tratada precocemente, podendo ser resultado de infecções subclínicas e outras condições pré-existentes, como diabetes (Rudd *et al.*, 2020).

No Brasil há uma elevada incidência, prevalência e morte relacionadas à sepse em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), com aproximadamente 200.000 mortes de pacientes adultos por ano (Machado *et al.*, 2017). Em 2017, aproximadamente 48.9 milhões de casos de sepse foram registrados, sendo responsáveis por 19.7% das mortes registradas no mundo (Rudd *et al.*, 2020).

Inicialmente, pode se manifestar através do aumento da temperatura corpórea, taquicardia, taquipneia ou alterações no número de leucócitos (Cai *et al.*, 2010) que evoluem a disfunções orgânicas (Singer *et al.*, 2016). A fase inicial, ou fase hiperinflamatória da doença, consiste em uma série de eventos que levam à “chuva de citocinas” (Pant *et al.*, 2021). Ao detectar a presença do patógeno, a resposta inflamatória e ativação precoce da resposta imune inata e adaptativa é iniciada (Cavaillon *et al.*, 2020). As células imunes do hospedeiro expressam receptores em superfícies extracelulares (receptores Toll-like, TLRs) e no citosol (receptores Nod-like, NODs). Os TLRs reconhecem padrões de patógenos moleculares (PAMPS) e padrões moleculares associados a danos (DAMPS) de células endógenas danificadas (Cavaillon *et al.*, 2020). Já os NODs, detectam patógenos que invadem o citosol, formando inflamassomos e consequente produção de citocinas inflamatórias (Tegger *et al.*, 2020). Esse estado inflamatório resulta na ativação de leucócitos, sistema complemento e vias de coagulação promovendo disfunção endotelial, celular e cardiovascular, além da redução da perfusão tecidual (Figura 2) (Deutschman e Tracey, 2014; Gyawali *et al.*, 2019; Cavaillon *et al.*, 2020). A perfusão reduzida compromete o fornecimento de oxigênio aos órgãos, levando a contração do miocárdio, redução da resistência vascular sistêmica, hipotensão, acidose metabólica, hiperglicemia, que caracterizam a síndrome de disfunção de múltiplos órgãos e pode levar a morte (Pant *et al.*, 2021).

Durante a sepse, há uma ativação de células monocíticas que leva à indução da liberação de procalcitonina (PCT) (Linscheid *et al.*, 2004), também produzida em resposta à liberação pró-inflamatória de endotoxinas e citocinas durante uma infecção ou durante uma inflamação

sistêmica como trauma extenso ou choque cardiogênico (Assicot *et al.*, 1993; Carrol *et al.*, 2002; Meisner, 2014).

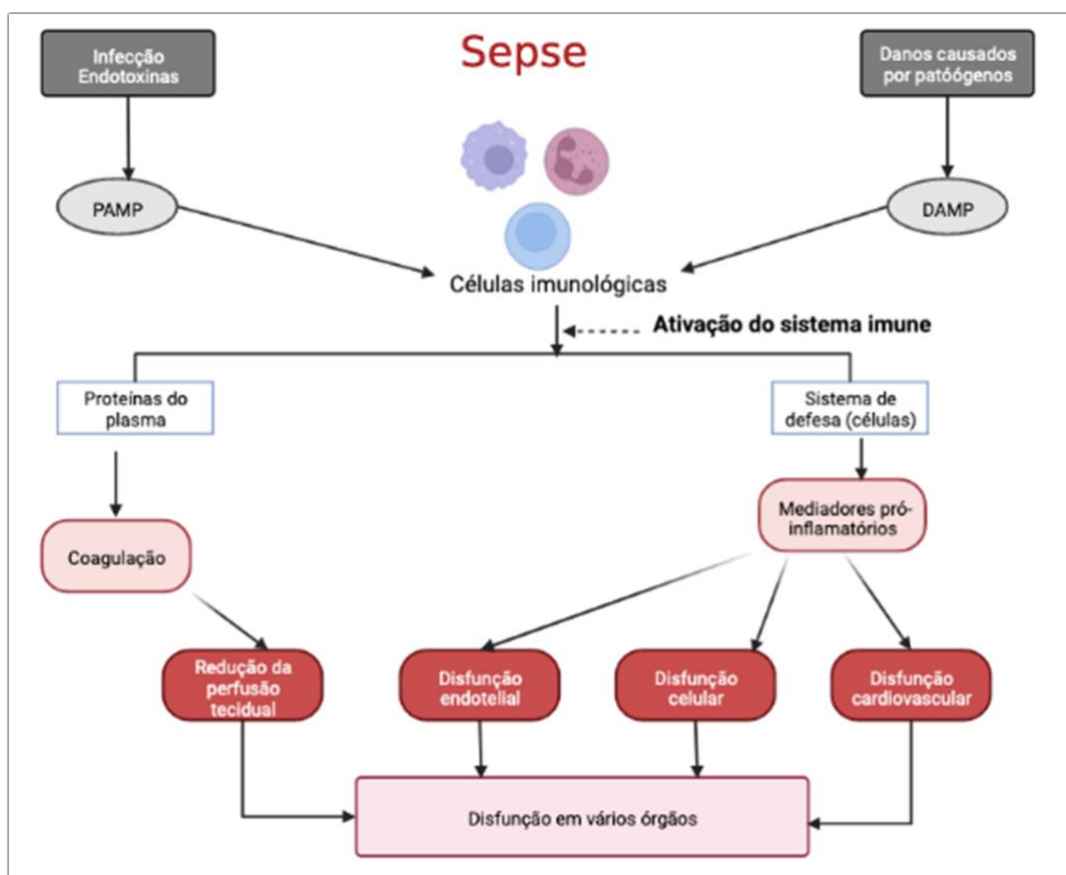


Figura 2. Alterações fisiopatológicas na sepse por infecção. A liberação de moléculas de PAMP/DAMP ativa as células imunes que mediam respostas ao nível das proteínas plasmáticas e ao nível celular. Como consequência ocorrem alterações no suprimento de sangue e consumo de oxigênio levando à disfunção orgânica múltipla. Adaptado de (Pant *et al.*, 2021).

A PCT é uma proteína precursora inativa da calcitonina, hormônio secretado pela tireoide envolvido na homeostase do cálcio (Dolin *et al.*, 2018; Gyawali *et al.*, 2019) e normalmente não é detectada em indivíduos saudáveis (Gyawali *et al.*, 2019). Evidências sugerem que a PCT, quando avaliada em conjunto com outros sinais clínicos, é um biomarcador prático para o diagnóstico precoce de sepse (Wacker *et al.*, 2013).

Em pacientes sistemicamente saudáveis, o nível sérico de PCT é extremamente baixo (<0.1 ng / mL) (Wiedermann *et al.*, 2002; Meisner, 2014). Quando a dosagem é ≤ 0.2 ng / mL, pode-se excluir o diagnóstico de sepse ou outra inflamação sistêmica grave e níveis plasmáticos ≥ 0.5 ng / mL já podem sugerir um diagnóstico positivo de sepse. Os níveis mais elevados de PCT ocorrem entre 24 e 48 horas (Meisner, 2014; Vijayan *et al.*, 2017). Desde a publicação

do estudo multicêntrico randomizado PRORATA, em 2010 (Bouadma *et al.*, 2010), tem se utilizado os valores de corte estabelecidos no estudo para guiar o uso ou não de antibióticos em unidades de terapia intensiva, ou seja, a partir de determinado valor é recomendado o uso de antibiótico pois provavelmente o paciente está entrando em infecção sistêmica (sepse). Dessa forma, concentrações de PCT inferiores a 250 pg/mL (0.25 µg/L) contraindicavam e maiores que 1000 pg/mL (1 µg/L) indicavam fortemente o início de terapia antibiótica (Bouadma *et al.*, 2010).

É considerada um mediador da inflamação uma vez que atua como um vasodilatador e promove liberação de mediadores inflamatórios (TNF- α , IL-6) e de proteínas de fase aguda, como a PCR (Dandona *et al.*, 1994; Selvadurai *et al.*, 2019), proteínas que também participam do processo de destruição tecidual presente na infecção periodontal (Selvadurai *et al.*, 2019) e consideradas marcadores de risco de DCV (Roca-Millan *et al.*, 2018; Fagundes *et al.*, 2019). A elevação dos níveis séricos de PCT sugere uma participação na resposta imune desempenhando um papel pró-inflamatório (Matwiyoff *et al.*, 2012).

O aumento dos níveis desse pró-hormônio não é específico, ocorrendo também em outras condições clínicas inflamatórias e já foi observado no soro (Bassim *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2013; Giannopoulou *et al.*, 2016; Redman *et al.*, 2016; Leira *et al.*, 2018; Selvadurai *et al.*, 2019; Sravya *et al.*, 2019), saliva (Bassim *et al.*, 2008; Hendek *et al.*, 2015; Yousefimanesh *et al.*, 2015; Redman *et al.*, 2016; Selvadurai *et al.*, 2019) e fluido crevicular gengival (Giannopoulou *et al.*, 2012; Muller Campanile *et al.*, 2015) de pacientes com periodontite.

Existem poucos estudos clínicos até o presente momento buscando avaliar a presença de PCT em pacientes com doenças periodontais. Na Figura 3, listamos esses estudos com as respectivas metodologias e resultados.

Figura 3. Estudos em humanos avaliando a presença de procalcitonina em pacientes com periodontite.

Autor	Tipo de estudo	Amostra	Critérios Diagnóstico Periodontal	Método	Intervenção	Resultados	Observações
(Bassim <i>et al.</i> , 2008)	Estudo clínico	N= 62 Grupos Teste: Pacientes com periodontite e diabetes (HgbA1c > 7.0%), n= 20. Controle: sem diabetes e sem periodontite, n=8. Sem diabetes e com periodontite: n=34	Periodontite severa: PD > 6 mm em mais de 30% dos sítios; Periodontite moderada: PD 4-6mm em mais de 30% dos sítios;	Follow up: 3 e 6 meses. Tipo de amostra: Soro e saliva. Teste: Soro: KRYPTOR-TRACE technology (BRAHMS, sensibilidade 60 pg/mL). Parâmetros clínicos: PS.	Raspagem supra e subgingival em sessão única (FMUD).	Indivíduos com periodontite severa mostraram maiores níveis de PCT na saliva do que os com periodontite moderada e do que os controle. Os níveis salivares foram maiores que os níveis séricos no grupo periodontite/ diabetes e no grupo controle	Não randomizado; primeiro estudo a avaliar a presença de PCT na saliva. A amostra parece ser de conveniência.
(Giannopoulou <i>et al.</i> , 2012)	Estudo clínico, controlado, cego, randomizado, boca dividida, paralelo.	N=32. Idade: 36-74 anos.	Indivíduos em manutenção por 3-24 meses; presença de pelo menos 1 sítio em cada quadrante a ser tratado com PS ≥ 5 mm, NIC ≥ 2 mm e presença de SS.	Follow up: 6 meses. Tipo de amostra: fluido crevicular gengival. Teste: Elisa (multiplex): PCT, CRP e TNF- α . Parâmetros clínicos: PS	Tratamento 1: raspagem e alisamento radicular (RAR). Tratamento 2: laser diodo Tratamento 3: terapia fotodinâmica (PDT)	PCT: em todas as intervenções houve aumento nos níveis de PCT e diferença significativa do <i>baseline</i> aos 2 e 6 meses; CRP: sem diferença entre os tratamentos/tempos; TNF- α : sem diferença entre os tratamentos, mas na avaliação geral houve aumento significativo do <i>baseline</i> aos 2 e 6 meses.	O único estudo em que os níveis de PCT (fluido crevicular) aumentaram no follow up. Aos 6 meses, todos os biomarcadores em questão aumentaram em relação ao <i>baseline</i> .
(Zhang <i>et al.</i> , 2013)	Caso controle	N=76 Grupos: Periodontite agressiva (n=44) Controle (n=32)	Início antes dos 35 anos; pelo menos 8 dentes (3 ou mais além de molares e incisivos) com profundidade de	Follow up: não. Tipo de amostra: soro. Teste: Elisa: IL-6 (sensibilidade 0.16	Não houve.	Maiores níveis séricos de DBP, IL-6, PCT e 25(OH)D3 em pacientes com periodontite agressiva comparado ao	

			sondagem > 6mm e perda óssea evidenciada radiograficamente.	pg/mL); PCT (sensibilidade 3.9 pg/mL). Vitamin D-binding protein (DBP): radioimunoensaio. Parâmetros clínicos: índice de sangramento; PS; NIC e percentual de sítios severamente afetados.		grupo controle (p < 0.05).	
(Hendek <i>et al.</i> , 2015)	Caso controle	N=72 Mínimo de 16 dentes. Grupos: Periodontite crônica (CP, n=21) Periodontie Agressiva (GAP, n=14) Gengivite (G, n=18) Saudáveis/Controle (H, n=19)	Classificação de 1999 (AAP).	Follow up: Não. Tipo de amostra: saliva. Teste: ELISA (BRAHMS). Parâmetros clínicos: PS, NIC, IP e índice gengival.	Não houve.	A mediana dos níveis de PCT foi menor no grupo H seguida dos grupos G, CP e a mais elevada foi a do grupo GA _G P. As diferenças foram significantes entre o grupo H e os demais grupos (p<0.05). Houve uma correlação positiva entre o nível salivar de PCT e os parâmetros GI, CAL e PD.	Dados expressos em mediana. Dados relativos apenas ao <i>baseline</i> .
(Muller Campanile <i>et al.</i> , 2015)	Clínico, longitudinal, randomizado, cego	N= 28 Idade:>18 anos; Indivíduos em manutenção com bolsas residuais (PS ≥5 mm), NIC ≥2 mm e SS+).	Indivíduos em manutenção periodontal entre 3 e 12 meses, com pelo menos 1 sítio por quadrante com PS >4 mm, CAL >mm, e BOP+.	Follow up: 3 e 6 meses. Tipo de amostra: Placa subgengival e fluido crevicular. Teste: ELISA multiplex mais de 20 biomarcadores, dentre eles PCT, CRP e TNF- α . Parâmetros clínicos: PS, NIC,	Terapia fotodinâmica, duas sessões em uma semana, onde: Grupo A: laser 2x Grupo B: laser + sham Grupo C: sham + sham	CRP e PCT: ao avaliar toda a amostra, sem distinção entre grupos, houve redução significativa ao comparar baseline e 6 meses. CRP teve redução maior quando o laser foi utilizado 2 vezes (Grupo A, p<0.05). As demais	Para a avaliação no fluido crevicular das citocinas não houve distinção entre os grupos nas tabelas mostradas no artigo, apenas descrito no texto.

				IP, SS e índice gengival.		diferenças não foram significantes.	
(Yousefimanesh <i>et al.</i> , 2015)	Caso controle	n=60 Saudáveis/control e (n=30) Periodontite crônica (n=30)	PS> 3mm em pelo menos 30% dos sítios.	Follow up: não. Tipo de amostra: Saliva. Teste: ELISA (BRAHMS). Parâmetros clínicos: PS, NIC, IP, SS.	Todos os pacientes receberam tratamento periodontal após a coleta de saliva inicial.	No grupo controle concentração de PCT variou de 0.081 pg/mL a 0.109 pg/mL e no grupo com periodontite crônica de 0.078 pg/mL a 0.114 pg/mL. Não houve diferença entre os grupos (p=0.17).	A metodologia utilizada apresenta alta sensibilidade de detecção (0.02-100µg/L), de acordo com o manual do fabricante e necessita de equipamento específico para leitura. Como o tempo do teste é de 18 minutos, tem sido utilizado em ambiente hospitalar.
(Giannopoulou <i>et al.</i> , 2016)	Estudo clínico, randomizado, duplo cego, placebo	n= 80; Idade: 25-70 anos; Mínimo 12 dentes; Periodontite crônica ou agressiva e severa a moderada;	Pelo menos 4 dentes com PS >4mm, perda de inserção de pelo menos 2mm, perda óssea radiográfica, detecção de <i>Aa</i> a partir de um pool de amostra da bolsa mais profunda de cada quadrante.	Follow up: Baseline, 3 meses, 6 meses, 12 meses. Tipo de amostra: Soro; Teste: Elisa (multiplex), dentre as avaliadas: IL-6, TNF- α , CRP e PCT.	- Fase 1: RAR em até 48 horas; Amoxicilina 375mg + Medronidazol 400mg 7 dias ou placebo - Fase 2: Acesso para raspagem em bolsas \geq 6mm + Amoxicilina 375mg + Medronidazol 400mg 7 dias ou placebo Grupo A: Fase 1: RAR+ Antibiótico Fase 2: acesso + placebo	Ambos os protocolos reduziram os picos dos marcadores nos tempos experimentais, sendo a maior redução no período de 3 meses, sem diferenças entre os grupos. PCT: encontrada em valores altos no <i>baseline</i> e reduziu nos tempos experimentais em ambos os grupos.	O estudo considera “pico” de cada biomarcador qualquer valor acima da média encontrada em 40 pacientes periodontalmente saudáveis, entretanto. Os valores estipulados estão em um estudo prévio (Almaghlouth <i>et al.</i> , 2014): - CRP: 1.9 (3.9) µg/ml

					Grupo B: Fase 1: RAR+ Placebo Fase 2: acesso + antibiótico.		- PCT: 2.2 (1.4) ng/ml - TNF- α : 14.0 (30.2) pg/ml
(Redman <i>et al.</i> , 2016)	Estudo clínico, single center	n= 83 Grupos Artrite reumatoide n=33; Osteoartrite (controle, n=50). Mínimo de 9 dentes.	Sem periodontite. Periodontite leve. Periodontite moderada. Periodontite severa. (Eke <i>et al.</i> , 2012)	Follow up: não. Tipo de amostra: Soro e saliva. Teste PCT: método Kryptor® (sensibilidade 0.002 ng/ml). HsCRP: ELISA.	Sem intervenção. Avaliação somente no <i>baseline</i> .	Soro: níveis de PCT maiores no grupo moderado/severo e em pacientes com periodontite severa comparado aos pacientes sem/ periodontite leve. Saliva: sem diferenças para PCT e hsCRP.	
(Leira <i>et al.</i> , 2018)	Estudo transversal	N=138 Idade: 46.3 \pm 10.1 anos. Grupos Controle (n=37): sem enxaqueca crônica (CM) e sem periodontite crônica (CP); CP (n = 19), CM+sem DP (n = 34); CM+CP (n = 48).	Periodonite (PC): \geq 2 sítios interproximais com NIC \geq 3 mm e \geq 2 sítios interproximais com PS \geq 4 mm (não o mesmo dente) ou 1 sítio com PS \geq 5 mm estava presente.	Follow up: não. Tipo de amostra: soro, 12 horas após episódio de CM. Teste: hs-CRP, imunodiagnóstico (sensibilidade 0.2 mg/L). PCT, Elecsys®, BRAHMS (sensibilidade 0.02 ng/mL). Parâmetros clínicos: PD, CAL, full-mouth plaque score (FMPS) e full-mouth bleeding score (FMB).	Sem intervenção. Avaliação somente no <i>baseline</i> .	O grupo PC+CM (0.056 \pm 0.006 ng/mL) teve maiores níveis séricos de PCT comparado ao grupo sem CM+ sem PC (0.029 \pm 0.019 ng/mL), ao grupo CM (0.041 \pm 0.002 ng/mL), ou ao grupo PC (0.034 \pm 0.014 ng/mL) (p < 0.001). não houve diferença entre os grupos para hs-CRP (p = 0.081). Uma regressão linear múltipla mostrou que PC estava associada a maiores níveis de PCT em pacientes com CM (R2 = 0.293, p < 0.001).	
(Selvadurai <i>et al.</i> , 2019)	Caso controle	N=33. Idade 30-39 anos.	Mínimo de 20 dentes. Categorizados de acordo com a	Follow up: não.	TPNC	Soro: níveis de PCT maiores no grupo com periodontite não tratada (3.25ng/ml).	

			classificação de 2017 (FEP).	<p>Tipo de amostra: Soro e fluido crevicular:</p> <p>Teste: ELISA (sensibilidade <30 pg/ml).</p> <p>Parâmetros clínicos: IP, SS, PS</p>	<p>Grupo I - saúde periodontal (n=11)</p> <p>Grupo II- gengivite (n=11)</p> <p>Grupo IIIa - periodontite (n=11)</p> <p>Grupo IIIb - após trat. Periodontal (grupo IIIa 12 semanas após TPNC).</p>	<p>O teste de correlação de Pearson demonstrou forte correlação entre a concentração de PCT e os parâmetros clínicos registrados em todos os grupos.</p>	
(Sravya <i>et al.</i> , 2019)	Estudo clínico, randomizado, cego	<p>N= 40 (fumantes)</p> <p>Idade: 35-60 anos</p> <p>Grupos</p> <p>Grupo A (Raspagem + Oxitard)</p> <p>Grupo B (Raspagem)</p>	Profundidade de sondagens >4 mm e perda de inserção clínica >2 mm.	<p>Follow up: 3 meses.</p> <p>Tipo de amostra: Soro.</p> <p>Teste: Elisa</p> <p>Parâmetros clínicos: índice gengival, PS e NIC.</p>	TPNC associado (Grupo A) ou não (Grupo B) ao uso de um extrato herbal (2 cápsulas, 2 x ao dia, 3 meses).	<p>EM ambos os grupos a concentração sérica de PCT reduziu após a intervenção. Entre os grupos, a diferença aos 3 meses também foi significativa, sugerindo que o uso do extrato herbal testado pode favorecer a redução sérica de PCT.</p>	

1.3 O tratamento periodontal

O manejo adequado da doença periodontal requer, além do tratamento periodontal não cirúrgico (TPNC), a compreensão dos componentes causais da doença em nível individual e a adoção de modalidades de tratamento personalizadas, como a modulação da inflamação (Kononen et al., 2019). Tratamentos dentários invasivos (IDTs), como o TPNC, desencadeiam inflamação aguda de curto prazo (Luthra et al., 2022). Portanto, o TPNC causa uma elevação dos marcadores inflamatórios devido à disseminação sistêmica de mediadores inflamatórios das bolsas e tecidos periodontais (D'aiuto et al., 2007).

O tratamento periodontal consiste essencialmente em remover ou reduzir a flora subgingival e fatores retentivos de biofilme através de procedimentos como raspagem e alisamento radicular (Sanghani *et al.*, 2014). Quirynen e colaboradores, em 1995, introduziram o conceito de sessão única na terapia periodontal (“full-mouth ultrasonic debridement” - FMUD) realizado em todos os dentes da boca, podendo ser dividido em duas sessões de duas horas, dentro das primeiras 24 horas. Segundo os autores o tratamento por múltiplas sessões, realizadas em quadrantes (“quadrant debridement” - QD), pode permitir a reinfecção das bolsas já tratadas. Além disso, no tratamento realizado por FMUD há uma redução significativa na carga bacteriana (Quirynen *et al.*, 1995). Entretanto, a literatura mostra que o tratamento em única sessão causa uma bacteremia transitória, que induz uma reação imunológica significativa, conhecida como reação de Schwartzman. Justificando os relatos de sintomas como dor e febre, e os aparecimentos de lesões herpéticas nos pacientes após o tratamento com FMUD (Quirynen *et al.*, 1995; Quirynen *et al.*, 2000; Teughels *et al.*, 2009).

Ushida e colaboradores (2008) avaliaram os níveis sanguíneos dos biomarcadores IL-6, PCR e trombomodulina em pacientes sem histórico de DCV, logo após a raspagem supragengival realizada com um equipamento ultrassônico em sessão única ou raspagem realizada em quadrantes em 4 sessões (Ushida *et al.*, 2008). Observou-se que o tratamento periodontal provocou uma elevação transitória de IL-6 e diminuição da trombomodulina sérica solúvel, e que estas alterações foram mais pronunciadas depois da raspagem em única sessão do que após a raspagem em quadrantes (Ushida *et al.*, 2008). Graziani e colaboradores (2015) mostraram resultados semelhantes após o tratamento periodontal em sessão única com o aumento significativo de PCR, IL-6 e TNF- α (Graziani *et al.*, 2015).

Existem evidências robustas de que pacientes com periodontite apresentam risco aumentado de doença cardiovascular e que o tratamento periodontal tem um efeito benéfico na redução do risco (Sanz *et al.*, 2020). Entretanto, o tratamento periodontal induz também a uma

resposta inflamatória aguda com elevação transitória de proteínas sistêmicas de fase aguda (D'aiuto *et al.*, 2007; Graziani *et al.*, 2010; Giannopoulou *et al.*, 2012; Graziani *et al.*, 2015). A bacteremia e os danos nos tecidos causados pelo tratamento periodontal aumentam os níveis plasmáticos de IL-6, TNF- α e PCR (Ide *et al.*, 2004; Tonetti *et al.*, 2007; Marcaccini *et al.*, 2009; Rastogi *et al.*, 2012). Alguns desses biomarcadores também estão elevados em eventos cardiovasculares agudos (Chan e Ng, 2010).

A literatura relata que a terapia de raspagem e alisamento radicular (FM-SRP), em comparação com raspagem de quadrante e alisamento radicular (Q-SRP), induz uma resposta aguda maior, elevando IL-6, TNF- α e PCR. No entanto, biomarcadores específicos de risco cardiovascular como BNP, NT-proBNP e COP ainda não foram avaliados na fase aguda, apenas em estudos observacionais ou ensaios clínicos com maior acompanhamento (Loo *et al.*, 2012; Czerniuk *et al.*, 2017; Dekker *et al.*, 2017; Rathnayake *et al.*, 2017; Leira e Blanco, 2018; Wang *et al.*, 2020). Assim, é razoável avaliar se marcadores específicos de eventos cardiovasculares agudos também sofrem essa elevação transitória, colocando os pacientes em risco de um evento cardiovascular agudo nas primeiras 48 horas após o atendimento.

2. Justificativa

2. JUSTIFICATIVA

A periodontite é uma condição de alta prevalência na população adulta, muitas vezes associada a morbidades. Apesar dos relatos iniciais, até o momento, não há uma definição se a terapia periodontal básica aumenta o risco de o paciente desenvolver algum dano cardiovascular.

Poucos são os estudos sobre a periodontite com a avaliação destes biomarcadores e, em sua maioria, são de pacientes com histórico estabelecido de quadros graves de DCV (Volpato *et al.*, 2001; Bokhari *et al.*, 2012; Rastogi *et al.*, 2012; Marfil-Alvarez *et al.*, 2014; Gorski *et al.*, 2016; Ryden *et al.*, 2016; Tiensripojarn *et al.*, 2021).

Há uma discussão na literatura sobre o tratamento periodontal FMUD versus QD (Farman e Joshi, 2008). A modalidade FMD parece apresentar melhores parâmetros clínicos de sucesso no tratamento periodontal (Fang *et al.*, 2016). Entretanto, não se sabe se as abordagens diferentes podem levar a um comprometimento sistêmico importante em decorrência da reação imunológica aguda que ocorre principalmente após o tratamento FMUD (Ushida *et al.*, 2008; Graziani *et al.*, 2015b).

Até o momento, não há estudos mostrando se a bacteremia, e conseqüentemente a resposta imunológica provocada pelo tratamento periodontal pode interferir na concentração plasmática destes biomarcadores específicos em pacientes sistemicamente saudáveis. É razoável avaliar se marcadores específicos de eventos cardiovasculares agudos também sofrem essa elevação transitória, colocando os pacientes em risco para um evento cardiovascular agudo nas primeiras 48 horas após o atendimento.

É coerente supor ainda que, pacientes que eventualmente são internados em hospitais, apresentam algum foco infeccioso ativo na cavidade oral, como a doença periodontal. Por apresentarem mecanismos biológicos de indução semelhantes, levantou-se a hipótese de que a resposta inflamatória exacerbada e transitória pode aumentar o risco de infecção sistêmica e de um evento cardiovascular adverso, como infarto agudo do miocárdio. Nesse contexto, também é razoável avaliar o impacto da resposta sistêmica ao tratamento periodontal no risco de sepse em ambiente hospitalar como consequência tardia do trauma tecidual induzido pelo TPNC.

Desta forma, considerando o grande número de procedimentos periodontais que são realizados, o envelhecimento da população e a alta prevalência de indivíduos com problemas cardiovasculares, faz-se necessário avaliar se a bacteremia e o trauma tecidual ocasionados pelo TPNC podem colocar pacientes em uma faixa de risco de evento cardiovascular agudo ou sepse. Tal resultado é importante para o planejamento e manejo de pacientes com um maior risco

sistêmico conhecido, como diabéticos e portadores de alterações cardiovasculares, buscando a redução do risco de eventos adversos graves.

3. Proposição

3. PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral

Avaliar a resposta de fase aguda do tratamento periodontal não cirúrgico (TPNC) realizado em sessão única ou múltiplas sessões em pacientes com periodontite, monitorando biomarcadores relacionados à sepse e a eventos cardiovasculares agudos.

3.2 Objetivos específicos

a) Avaliar parâmetros clínicos periodontais (profundidade de sondagem – PS, nível de inserção clínica – NIC, sangramento à sondagem – SS, índice de placa – IP e a área de superfície inflamada periodontal- PISA) antes e após o TPNC em pacientes normossistêmicos diagnosticados com periodontite;

b) Avaliar e quantificar os biomarcadores (PCT, COP, BNP, NT-proBNP, IL-6, TNF- α e PCR) em três momentos: antes da terapia periodontal (baseline), após 24 e 48 horas de iniciada a terapia periodontal.

c) Estabelecer uma plausibilidade entre o risco sistêmico do tratamento periodontal.

d) Sugerir abordagens menos invasivas para minimizar possíveis riscos e proteger o paciente.

4. Material e métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O estudo foi conduzido pelo Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia, com autorização do Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP (CEP/FORP), protocolo CAAE nº 56454016.6.0000.5419 (Anexo A) e financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo número 2017/20770-6 (Anexo B).

Foram avaliados os prontuários de pacientes que já haviam sido submetidos a tratamento periodontal na clínica de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP) e estavam sem acompanhamento ou manutenção a mais de um ano. Aqueles que possivelmente se enquadrariam no projeto foram convidados a participar de maneira voluntária. Adicionalmente, pacientes foram selecionados a partir da livre demanda da (FORP) e aqueles que não se enquadraram nos critérios de inclusão da pesquisa foram encaminhados para tratamento na Clínica de Graduação da instituição.

Os princípios da Declaração de Helsinque e as diretrizes CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) (Schulz *et al.*, 2010) foram seguidos durante todo o estudo. Todos os pacientes receberam informações detalhadas sobre os procedimentos a serem executados, riscos, benefícios e procedimentos para minimização dos riscos, conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), aprovado pelo CEP/FORP (APÊNDICE A).

Destaca-se que foi tomado um especial cuidado na seleção da amostra para a realização do estudo em pacientes em bom estado de saúde geral, evitando assim a exposição a um potencial risco devido ao desenho experimental, trauma tecidual e bacteremia, com base nas evidências apresentadas.

4.2 Cálculo do tamanho da amostra

Com base no estudo de Graziani *et al.*, 2015 (Graziani *et al.*, 2015), que avaliou a resposta de fase aguda após o tratamento periodontal, e no estudo de Ebersole *et al.*, 2017 (Ebersole *et al.*, 2017), que correlacionou os níveis de CRP com a saúde bucal e o infarto agudo do miocárdio, foi calculada uma estimativa do tamanho amostral para esse estudo. Para o cálculo foi determinado um poder de 80%, nível de significância de 5% e tamanho de efeito

médio-baixo de 0.4, obtendo-se assim uma amostra total de 52 indivíduos para se obter um resultado clinicamente significativo, ou seja, em média 26 indivíduos por grupo.

Considerando uma perda de seguimento de amostra razoável de 15%, nesse estudo foi preconizado um N total de 60 pacientes, divididos em 2 grupos de 30 pacientes.

4.3 Seleção dos Pacientes

Pacientes provenientes da triagem de demanda espontânea e do arquivo de prontuários de pacientes da Clínica de Pós-Graduação foram avaliados e os que se enquadraram no estudo foram convidados a participar da pesquisa. Todos os pacientes selecionados receberam orientação para leitura e assinatura do TCLE (APÊNDICE A). Após os esclarecimentos, foi realizada anamnese criteriosa, instrução de higiene oral (IHO) e avaliação periodontal inicial, além da coleta da amostra de sangue inicial e avaliação de saúde geral (peso, altura, índice de massa corporal- IMC, circunferência abdominal- CAB e pressão arterial). A triagem e o atendimento clínico dos pacientes participantes do projeto de pesquisa foram iniciados em abril de 2017 e finalizados em dezembro de 2019.

Como critérios de inclusão, todos os pacientes deveriam apresentar no mínimo 14 dentes naturais, sendo pelo menos 4 deles molares com pelo menos 4 bolsas com profundidades ≥ 4 mm e 6 sítios com perda de inserção > 3 mm para serem considerados pacientes portadores de periodontite (Lopez *et al.*, 2000). De acordo com a atual Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Perimplantares (Tonetti *et al.*, 2018) e com os critérios de diagnóstico e inclusão do estudo, os pacientes incluídos eram diagnosticados com periodontite estágio II ou III.

Foram excluídos pacientes com inflamação crônica ou condições imunológicas, doenças crônicas, história de tabagismo, gravidez, lactação e medicamentos como anti-inflamatórios, antibióticos, imunossupressores ou anticoagulantes nos últimos seis meses ou de uso contínuo.

O risco de eventos cardiovasculares foi avaliado previamente em todos os pacientes selecionados de acordo com a Associação Brasileira de Cardiologia (ABC). Foram avaliados fatores como tabagismo, hipertensão, sobrepeso/obesidade, dislipidemia, atividade física regular e fatores psicossociais (Simao *et al.*, 2014). Pacientes que foram enquadrados nas categorias de risco médio ou alto foram excluídos do estudo e orientados a procurar atendimento médico especializado. A exclusão desses pacientes teve por objetivo a não exposição do paciente ao risco objeto de estudo do projeto. Da mesma forma, aqueles que

abandonaram o estudo ou não puderam comparecer às consultas agendadas foram excluídos, mas continuaram a receber tratamento periodontal.

4.4 Delineamento do estudo

Para esclarecimento do delineamento do estudo, as informações foram organizadas no fluxograma a seguir (Figura 4).

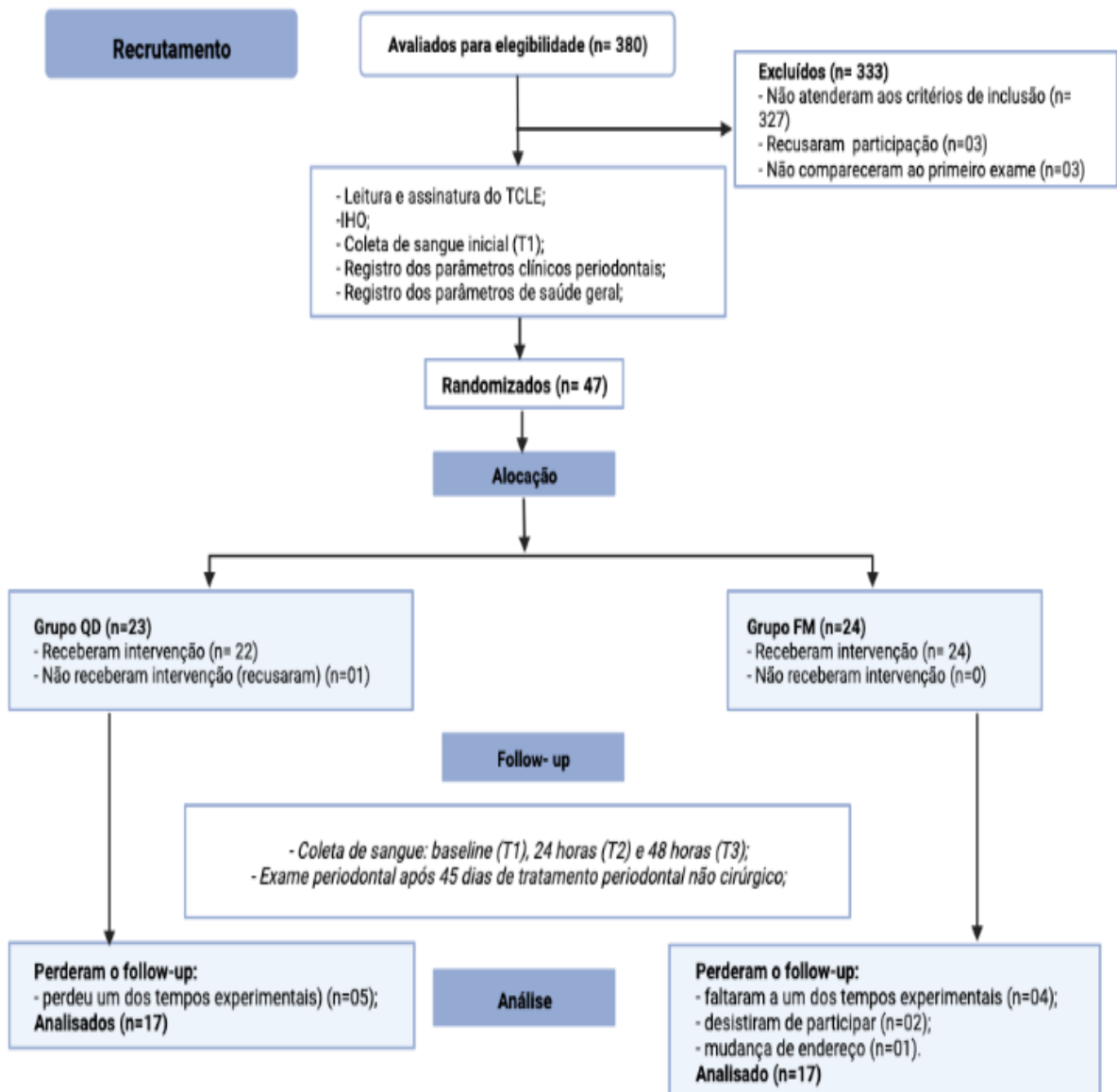


Figura 4. Fluxograma do estudo.

Uma vez incluídos no estudo e após leitura e assinatura do TCLE, os pacientes receberam instrução de higiene oral (IHO) e era realizada a primeira coleta de sangue (T1). Um examinador experiente (examinador 1) e calibrado antes do estudo (K.F.C.) realizou toda a coleta de dados clínicos.

Os participantes foram alocados em grupos QD ou FMD por randomização em blocos de 10 usando uma sequência de números aleatórios criada por um programa de computador (Microsoft Excel, Microsoft® Corporation, Santa Rosa, California). Um assistente externo (D.S.G.) realizou o procedimento de randomização usando códigos numéricos e envelopes opacos e lacrados. Os envelopes foram abertos pelo examinador 2 (C.M.T.) pouco antes do início do TPNC.

Após a coleta de sangue, o examinador 1 prosseguia com a realização da avaliação periodontal inicial. Em seguida, um envelope escuro e lacrado contendo a alocação do paciente era entregue ao examinador 2, que iniciava o protocolo de atendimento de acordo com o grupo experimental da seguinte maneira:

a) Grupo QD:

- Raspagem supragengival da boca toda e subgengival de um quadrante;
- Após 24 horas, coleta de sangue (T2);
- Após 48 horas, coleta de sangue (T3);
- Raspagem subgengival dos demais quadrantes, com intervalo de 7 dias entre as sessões (máximo de 4 sessões);
- Reavaliação periodontal e de saúde geral (após 45 dias);
- Terapia periodontal de suporte.

b) Grupo FMD:

- Raspagem supragengival e subgengival da boca toda em uma única sessão;
- Após 24 horas, coleta de sangue (T2);
- Após 48 horas, coleta de sangue (T3);
- Reavaliação periodontal e de saúde geral (após 45 dias);
- Terapia periodontal de suporte.

Antes do TPNC, todos os pacientes realizavam bochecho com 15 mL de uma solução de digluconato de clorexidina sem álcool a 0,12% por um minuto. Ambos os protocolos de TPNC foram realizados com ultrassom (Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) e

curetas Gracey manuais (Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, EUA), sem o uso de medicações adjuvantes. Os pacientes foram avaliados clinicamente no *baseline* e após 45 dias, e aqueles sem sinais clínicos de atividade da doença, entraram em terapia de suporte e manutenção.

4.5 Coleta das amostras

De cada paciente atendido foi coletado, a vácuo, cerca de 10 mL de sangue periférico por punção venosa em tubos contendo gel separador e ativador de coágulo (Labor Import Comercial Imp. Exp., Osasco, SP, Brasil). A coleta seguiu as normas de biossegurança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) e foi realizada por um profissional devidamente treinado (C.M.T.) e nos tempos experimentais pré-determinados.

As amostras ficaram em temperatura ambiente por 1 hora para retração do coágulo. Após a retração do coágulo, a amostra seguiu para a centrífuga para a separação do soro em tubo com tampa, a 3000 rpm (rotações por minuto), por oito minutos. Em seguida, o soro (sobrenadante) foi transferido para micro tubos esterilizados e secos, identificados com iniciais do paciente e tempo experimental em alíquotas de 1,5 mL para armazenamento em freezer - 80°C (Figura 5). Não houve identificação em relação ao grupo ao qual a amostra pertencia, apenas o profissional responsável pelo processamento inicial das amostras sabia a qual grupo cada amostra pertencia, permitindo o cegamento também do responsável pelo processamento final e análise laboratorial das amostras (M.S.T.).

4.6 Calibração do examinador

Para garantir a concordância diagnóstica intra examinador durante a realização do exame clínico periodontal na pesquisa, foi utilizado o índice Kappa. O nível de concordância, de acordo com o índice de Kappa, para ser considerado aceitável deve ser maior ou igual a 0,85 (LANDIS e KOCH, 1977). Para este fim, a PS foi registrada em 5 pacientes com pelo menos dois dentes com $PS \geq 5\text{mm}$. Cada paciente foi avaliado duas vezes em um intervalo de 48 horas com uma sonda periodontal manual (PCP UNC 15, Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, EUA). De acordo com o coeficiente Kappa, o examinador 1 foi considerado calibrado quando o índice de concordância entre as medidas repetidas foi igual ou superior a 90%.

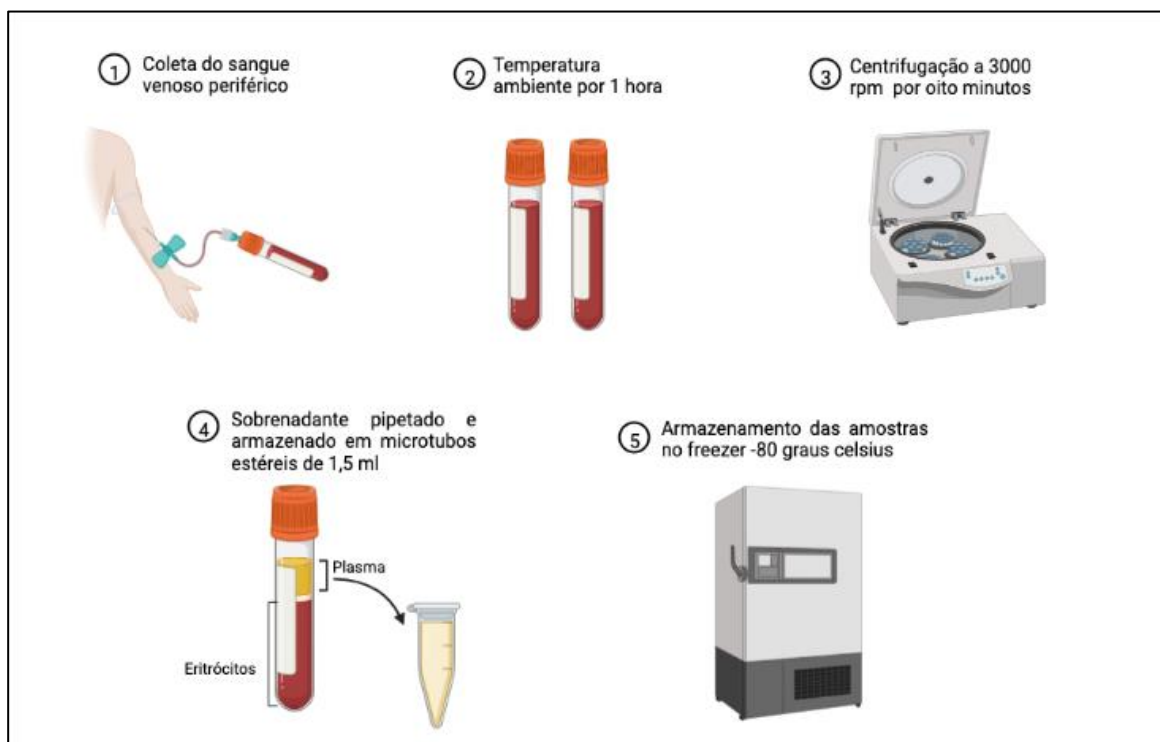


Figura 5. Sequência de coleta de amostra por punção venosa e armazenamento das amostras.

4.7 Avaliação periodontal

No *baseline* e após 45 dias, os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados com uma sonda periodontal manual (PCP UNC 15, Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, EUA), com medidas arredondadas ao milímetro mais próximo. Foram registrados:

- Índice de Placa (IP, %): presença de placa bacteriana visível, de forma dicotômica, nas faces vestibular, palatina ou lingual, mesial e distal, sendo o índice determinado pela porcentagem das faces com placa em relação a todas as faces;
- Sangramento à sondagem (SS, %): registrado quando em até 20 segundos após a sondagem houve sangramento no sítio avaliado.
- Profundidade de sondagem (PS, mm): valor obtido a partir da margem gengival até o fundo do sítio periodontal;
- Nível de inserção clínico (NIC, mm): valor obtido a partir da junção cimento-esmalte até o fundo do sítio periodontal;
- Área de superfície periodontal inflamada (PISA, mm²): os valores de NIC, posição da margem gengival e SS obtidas no exame periodontal detalhado foram utilizadas para calcular a PISA de acordo com o protocolo descrito por Nesse *et al* (2008) (Nesse *et al.*,

2008). A planilha para cálculo do PISA está disponível para uso gratuito no endereço eletrônico <https://www.parsprototo.info/>.

O IP foi avaliado considerando-se quatro sítios por dente (vestibular, lingual/palatino, mesial e distal). Os parâmetros clínicos PS, NIC e SS foram avaliados em seis sítios por dente (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, lingual e disto-lingual). Um exame radiográfico periapical de todos os dentes foi realizado para diagnóstico e confirmação da perda óssea inter proximal.

4.8 Tratamento periodontal não-cirúrgico (TPNC)

Todos os pacientes selecionados receberam instrução de higiene oral (IHO), incluindo orientações de escovação dental, uso do fio dental além de remoção da placa da superfície lingual durante a escovação.

No Grupo QD, o TPNC foi realizado por quadrantes em intervalos de sete dias. No Grupo FMD, consistiu em raspagem e alisamento radicular supra e subgengival em sessão única, sendo finalizada em até 24 horas.

Em ambos os grupos a raspagem supragengival foi realizada com aparelho ultrassônico (Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e a raspagem subgengival e alisamento radicular com instrumentos manuais como as curetas de Gracey (Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, Il, EUA) e se necessário aparelho ultrassônico (Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e/ou brocas para acabamento e polimento das superfícies radiculares (Periojet, Intensiv SA, Montagnola, Switzerland). A irrigação subgengival foi realizada apenas com soro fisiológico estéril.

A reavaliação foi feita 45 dias após a conclusão do TPNC com o objetivo de registrar os novos parâmetros clínicos periodontais e verificar a necessidade de nova instrumentação e/ou realização de procedimentos complementares.

4.9 Terapia Periodontal de suporte (TPS)

Após a reavaliação e constatada a ausência de sinais clínicos de atividade de doença periodontal, os pacientes entraram em TPS, sendo feita uma reavaliação a cada 3 meses, reforço na IHO, polimento coronário e, caso necessário, nova raspagem e alisamento radicular por um período de 12 meses.

4.10 Processamento das amostras

O teste padrão realizado foi o ensaio de imuno absorção enzimática para detecção de anticorpos específicos utilizando-se de kits comercialmente disponíveis para proteínas do soro humano. Os experimentos foram realizados sempre em duplicata e comparados com a curva padrão de cada marcador após leitura em espectrofotômetro de microplacas.

Inicialmente, o valor de proteína total das amostras foi determinado por meio de ensaio de imunoabsorção enzimática convencionais (ELISA), utilizando-se kits comercialmente disponíveis conforme instruções do fabricante (Thermo Fischer Scientific, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Áustria). A leitura colorimétrica foi realizada através de um espectrofotômetro a 650nm (TP-Reader, ThermoPlate®, São Paulo, SP, Brasil) e os valores expressos em ng/dL. O valor de proteína total obtido foi convertido em pg/mL e então utilizado para normalizar os valores de concentração das proteínas encontradas nas amostras. Sendo assim, os valores de concentração dos biomarcadores foram apresentados como a razão entre a concentração dos biomarcadores e o valor de proteína total. Amostras abaixo do limite de detecção foram registradas como zero.

Para quantificação dos biomarcadores PCT, BNP, CRP e COP foram utilizados comercialmente em um analisador MAGPIX® (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA). Os ensaios foram realizados em uma placa de 96 poços seguindo as instruções do fabricante (Life Technologies Corporations, Santa Clara, CA, EUA; Express Biotech International Inc., Frederick, MD, EUA). De maneira resumida, após o preparo dos reagentes e padrões, 100µL de cada padrão e de cada amostra em temperatura ambiente (18-25°C) foram adicionados aos poços. A placa foi coberta e incubada por 2.5 horas com agitação suave. Após lavagem da placa por quatro vezes, foi adicionado 100µL de anticorpo biotilado em cada poço seguida de nova incubação por 1 hora sob agitação suave. A placa era novamente lavada por quatro vezes e 100µL do reagente Streptavidin-HRP foi adicionado em cada poço. A placa era novamente coberta e incubada sob agitação suave por mais 45 minutos. Após lavagem, foi adicionado 100µL do substrato TMB em cada poço e a placa foi incubada no escuro por 30 minutos sob agitação suave. Em seguida, 50µL de uma solução contendo ácido sulfúrico (H₂SO₄) era adicionada para interromper a reação e a absorbância era mensurada (MAGPIX®, Luminex Corporation, Austin, TX, EUA).

Já o biomarcador NT-proBNP e as citocinas IL-6 e TNF- α , foram analisados através de um painel do tipo multiplex de acordo com as instruções do fabricante (Procartaplex, Life

Technologies Corporations, Santa Clara, CA, EUA). Resumidamente, após adição de 50µL dos *beads* magnéticos em cada poço e remoção desse líquido, são adicionados: 25µL do *buffer* universal (Procartaplex, Life Technologies Corporations, Santa Clara, CA, EUA), 25µL dos padrões, amostras e controles. A placa era então selada e incubada à temperatura ambiente (18-25°C) sob agitação suave por 120 minutos. Após lavagem, foi adicionado 25µL do mix de detecção do anticorpo em cada poço e a placa foi novamente selada, incubada sob agitação suave por 30 minutos. Após nova lavagem, foi adicionado 50µL estreptavidina-PE em cada poço e esse conjunto foi selado e incubado por mais 30 minutos, seguido de nova lavagem. Por fim, após adição de 120µL do *buffer* de leitura e agitação por 5 minutos à temperatura ambiente a placa foi avaliada pelo MAGPIX® (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA). Todas as análises foram feitas em duplicata e o valor final expresso como a média em pg/mL. Todas as amostras foram analisadas individualmente e os níveis de biomarcadores estimados a partir de uma curva polinomial de quinto grau utilizando-se o software xPONENT® (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA).

4.11 Análise estatística

Os dados foram analisados por um software (Statistical Package for the Social Sciences version 22- IBM SPSS Statistics 22, IBM Corporation, Somers, NY, USA) e apresentados como média \pm desvio padrão e mediana (intervalo interquartilico) para posterior comparação com outros estudos. Para todos os testes, considerou-se o nível de significância estatística de 95% ($p < 0.05$).

O teste *t* para amostras independentes foi utilizado para verificar se havia diferenças estatisticamente significativas entre os dados amostrais de média do grupo QD e o grupo FMD. Este teste foi aplicado às variáveis quantitativas demográficas no *baseline* para mostrar que os dois grupos estudados partiram de condições iguais. Posteriormente, ele também foi aplicado para verificar a existência de diferenças significativas nas médias dos parâmetros clínicos em amostras independentes ao longo do tempo. Neste teste, a hipótese nula sustenta que não há diferenças estatisticamente significativas entre as médias amostrais, portanto, valores de *p* menores que o nível de significância adota ($p < 0.05$) sugerem diferenças entre as médias (Ruiz, 1983).

Considerando que algumas partes dos dados violaram pressupostos importantes de normalidade e heterocedasticidade (Boneau, 1960), optou-se por utilizar alternativas não-

paramétricas dos testes de Mann-Whitney (Mann e Whitney, 1947) para a comparação de médias intergrupos e de Wilcoxon (Wilcoxon, 1945) para comparação de médias intragrupos.

O teste U de Mann-Whitney, em contraste ao seu par paramétrico, avalia a diferença existente entre a mediana de duas amostras independentes. Os dados originais das duas amostras são transformados em um vetor e ordenados (postos), denominado conjunto W. Anota-se a ordem de cada elemento do conjunto geral, depois as duas amostras são separadas. A soma obtida com todas as ordens dos elementos da primeira amostra dá origem à estatística U. Enquanto menor é o valor da estatística U, maior é a probabilidade de haver diferenças entre as amostras (Mann e Whitney, 1947).

O teste de Wilcoxon foi utilizado para comparação dos dados das amostras pareadas. Neste teste, calcula-se a diferença entre cada par sob teste para verificar se houve aumento (+), diminuição (-) ou não variação (=). Essas diferenças são ordenadas em módulo, substituindo-se os valores originais pelo posto correspondente que ocupam na sequência de dados. O teste de hipótese de igualdade entre grupos baseia-se na soma das diferenças positivas e negativas dos postos. O teste considera que se a diferença entre os pares é aleatória, então haverá a mesma quantidade de ordens elevadas e ordens inferiores tanto para diferenças positivas quanto para diferenças negativas, assim, a hipótese nula de igualdade das amostras será corroborada (Wilcoxon, 1945).

Por fim, foi utilizado o teste de correlação de Pearson para verificar associação linear entre níveis séricos de NT-proBNP, biomarcadores e parâmetros clínicos periodontais (PISA). Neste teste, há a apresentação de dois parâmetros básicos, quais sejam: o coeficiente de Pearson (r) e o p-valor. O coeficiente de Pearson é medido em uma escala de varia de -1 a 1, em que valores negativos sugerem que as variáveis estão inversamente correlacionadas, enquanto valores positivos indicam a existência de correlação direta. A hipótese nula do teste é que não há associação estatística entre as variáveis, portanto, a rejeição desta hipótese ($p < 0.05$), sugere associação entre as variáveis (Ruiz, 1983).

5. Resultados

5. RESULTADOS

5.1 População do estudo e parâmetros clínicos periodontais

No total, trezentos e oitenta pacientes foram recrutados para o estudo. Após avaliação inicial, trezentos e trinta foram considerados inelegíveis e três recusaram a participação. Os demais foram randomizados. Ao longo do estudo, um paciente recusou receber a intervenção após já ter sido incluído no estudo, dois desistiram de participar por motivos pessoais, nove perderam pelo menos uma das visitas de acompanhamento e um paciente mudou de endereço. Dezesete pacientes de cada grupo completaram o protocolo do estudo e foram analisados (Figura 1).

Embora o estudo tenha sido finalizado com um número considerável de desistências, não houve alterações significantes na distribuição dos participantes entre os grupos quanto à idade, sexo e diagnóstico periodontal. Além disso, uma análise post-hoc demonstrou que, para o número de 34 indivíduos, foi alcançado um poder estatístico de 0.82.

Todos os procedimentos clínicos e coletas de amostras ocorreram sem intercorrências. Em relação aos efeitos adversos, apenas um paciente do Grupo QD relatou episódio de febre (37.8°C) nas primeiras 24 horas. Todos os pacientes relataram leve sensibilidade após o tratamento periodontal. Nenhum outro evento adverso foi relatado pelos indivíduos participantes.

Os dados demográficos da amostra para ambos os grupos estão descritos na Tabela 1. As características do *baseline* evidenciam que não houve diferenças entre os grupos quanto à idade, sexo, número de dentes, IMC, CAB, pressão arterial sistólica e diastólica ($p > 0.05$) (Tabela 1). No entanto, no grupo FMD houve maior número de indivíduos com excesso de peso (Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation, 2000). No início do estudo, os indivíduos tinham em média 26.12 ± 3.65 e 25.82 ± 2.67 dentes para os grupos QD e FMD, respectivamente.

A avaliação dos parâmetros clínicos periodontais no *baseline* e no dia 45, evidenciou melhora significativa em ambos os grupos ($p < 0.05$; Tabela 2). Isso incluiu reduções no percentual de sítios com sangramento à sondagem (QD: 49.90%–23.35%, FMD: 49.01%–24.19%), percentual de dentes com bolsas ≥ 5 mm (QD: 55.73%–33.56%, FMD: 50.65% – 30.03%) e PISA (QD: $1126.67 - 474.17$ mm², FMD: $1060.43 - 460.18$ mm²). A melhora nos parâmetros clínicos foi significativa entre os grupos de tratamento ($p > 0.05$), exceto para NIC no grupo FMD ($p = 0.34$; Tabela 2).

Tabela 1. Características demográficas da amostra no *baseline*.

Variável	Grupo QD	Grupo FMD	<i>p</i>
Idade (média ± DP)	44.06 ± 11.08	46.18 ± 10.57	0.57
Homens (n/%)	6 (35.3)	6 (35.3)	1.00
Número de dentes	26.12 ± 3.65	25.82 ± 2.67	0.79
Obesidade (n/%)			
<i>Peso normal</i>	7 (41.18)	4 (23.53)	
<i>Acima do peso</i>	5 (29.41)	10 (58.82)	
<i>Obeso</i>	5 (29.41)	3 (17.65)	
IMC (Kg/m ²)	26.71 ± 4.56	28.22 ± 4.64	0.35
Circunferência abdominal (mm)	82.47 ± 10.73	90.41 ± 14.70	0.08
Pressão arterial sistólica (mmHg)	115.88 ± 9.39	118.82 ± 6.97	0.31
Pressão arterial diastólica (mmHg)	81.76 ± 10.15	84.12 ± 10.04	0.50

Notas: IMC: Índice de massa corporal. *P*: valores de *p* de testes *t*. Variáveis expressas como média ± desvio-padrão (DP) ou n (%).

Tabela 2. Parâmetros clínicos periodontais ao longo do tempo.

	<i>Baseline</i>	45 dias	<i>p</i> ^a
IP (%)			
<i>Grupo QD</i>	78.64 ± 21.71	33.47 ± 13.71	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	61.84 ± 23.49	25.17 ± 12.46	0.00*
<i>p</i> ^b	0.04	0.07	-
SS (%)			
<i>Grupo QD</i>	49.90 ± 17.76	23.35 ± 9.60	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	49.01 ± 23.59	24.19 ± 6.74	0.00*
<i>p</i> ^b	0.90	0.77	-
PS (mm)			
<i>Grupo QD</i>	3.49 ± 0.37	2.92 ± 0.39	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	3.32 ± 0.67	2.96 ± 0.60	0.00*
<i>p</i> ^b	0.36	0.81	-
PS ≥ 5 mm (percentual de dentes)			
<i>Grupo QD</i>	55.73 ± 17.42	33.56 ± 20.31	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	50.65 ± 18.29	30.03 ± 19.32	0.00*
<i>p</i> ^b	0.42	0.62	-
NIC (mm)			
<i>Grupo QD</i>	4.13 ± 0.82	3.48 ± 0.54	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	3.73 ± 0.73	3.61 ± 0.87	0.34
<i>p</i> ^b	0.14	0.61	-
NIC ≥ 5 mm (número de dentes)			
<i>Grupo QD</i>	65.27 ± 17.19	51.54 ± 21.38	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	62.21 ± 17.56	51.44 ± 24.32	0.00*
<i>p</i> ^b	0.60	1	-
PISA (mm²)			
<i>Grupo QD</i>	1126.67 ± 491.16	474.17 ± 352.97	0.00*
<i>Grupo FMD</i>	1060.43 ± 639.67	460.18 ± 270.68	0.00*
<i>p</i> ^b	0.52	0.93	-

Notas: ^aAnálise intra-grupo. ^bAnálise inter-grupos. *P*-valor do teste *t*. **p*-valor < 0.05.

Variáveis estão expressas como média ± desvio-padrão. Valores para *PS* ≥ 5 mm expressos em percentual de dentes ± desvio-padrão e para *NIC* ≥ 5 mm percentual de dentes ± desvio-padrão.

5.2 Avaliação dos biomarcadores

Na maioria dos pacientes, a concentração sérica de COP foi baixa, com a maioria das amostras abaixo do limite de detecção do ensaio (0.5 ng/mL – 1000ng/mL). Além disso, em ambos os grupos não foram observadas diferenças significativas nos momentos experimentais ($p > 0,05$; Tabela 3).

Para o BNP, embora tenha havido redução em T2 ($\Delta = -1.77$) e T3 ($\Delta = -1.92$) em relação ao *baseline* no Grupo FMD, essa variação permaneceu sem significância estatística ($p > 0,05$; Tabela 3). Para o NT-proBNP, não houve variações dos tempos experimentais para o Grupo QD ($p > 0,05$; Tabela 3). Houve uma leve redução do NT-proBNP nas primeiras 24 horas para o Grupo FMD, mas sem diferença ao longo do tempo. Para todos os tempos experimentais, houve diferença entre os grupos ($p < 0,05$; Tabela 3).

Houve uma concentração significativamente maior de PCR no Grupo QD quando os valores do *baseline* (T1) foram comparados a T2 (6.31 ± 6.58 vs 10.43 ± 7.56 , $p = 0.01$) e a T3 (6.31 ± 6.58 vs $10,15 \pm 7.88$, $p = 0.01$), o que não foi detectado no Grupo FMD (Tabela 3). As análises inter e intragrupos das concentrações de PCT ao longo do tempo não mostraram diferenças significativas ($p > 0.05$) (Tabela 3).

Em relação às citocinas sistêmicas (Tabela 4), em todos os tempos experimentais, as concentrações séricas de IL-6 foram maiores para o Grupo DQ. No entanto, uma análise intragrupo detectou diferença apenas em 48 horas para o Grupo QD ($p^c < 0,05$). Para o TNF- α , não houve diferenças entre os grupos ao longo do tempo ($p^d > 0,05$), sendo encontrada diferença significativa apenas para o Grupo QD em 24 horas ($p^a < 0,05$).

Como os resultados clínicos decorrentes do tratamento periodontal foram equivalentes em ambos os grupos, uma nova análise foi realizada considerando toda a amostra (Tabela 5). Foi possível detectar um aumento significativo dos níveis séricos de IL-6 em T1 e T2 ($p < 0,05$). Além disso, para TNF- α , o aumento foi detectado apenas em T1 ($p < 0,05$) e para COP, nas primeiras 24 horas houve redução dos níveis sistêmicos ($p < 0,05$). No *baseline* (T1), as concentrações da PCR quando comparados a T2 (7.31 ± 6.54 vs 10.73 ± 8.08 , $p = 0.005^*$) e a T3 (7.31 ± 6.54 vs 10.78 ± 8.44 , $p = 0.003^*$) foram estatisticamente diferentes, mas não houve diferenças para os níveis de PCT (Tabela 5).

Tabela 3. Níveis sistêmicos de biomarcadores ao longo do estudo nos Grupos QD (n = 17) e FMD (n = 17).

	T1	T2	T3	p ^a	p ^b	p ^c
COP (pg/mL)						
<i>Grupo QD</i>	0.29 ± 0.60 0 (0- 0.46)	0.12 ± 0.42 0 (0- 0)	0.20 ± 0.55	0.05*	0.07	0.21
<i>Grupo FMD</i>	0.33 ± 1.35 0 (0- 0)	0.01 ± 0.02 0 (0- 0)	0.02 ± 0.08	0.65	0.65	0.65
<i>p^d</i>	0.05	0.25	0.08	-	-	-
BNP (pg/mL)						
<i>Grupo QD</i>	14.05 ± 19.67 7.12 (0- 23.56)	13.67 ± 19.97 4.83 (0- 22.83)	14.21 ± 21.00 6.54 (0- 17.41)	0.44	0.51	0.80
<i>Grupo FMD</i>	10.57 ± 28.50 3.70 (0- 7.56)	8.80 ± 20.66 2.52 (0- 6.61)	8.65 ± 20.78 2.18 (0- 8.19)	0.97	0.35	0.79
<i>p^d</i>	0.43	0.70	0.45	-	-	-
nt-proBNP (pg/mL)						
<i>Grupo QD</i>	0.12 ± 0.02 0.12 (0.10- 0.12)	0.12 ± 0.02 0.12 (0.10- 0.12)	0.12 ± 0.01 0.12 (0.11- 0.12)	0.39	0.57	0.39
<i>Grupo FMD</i>	0.10 ± 0.05 0.08 (0.08- 0.11)	0.01 ± 0.03 0.08 (0.08- 0.12)	0.10 ± 0.02 0.08 (0.08- 0.12)	0.77	0.73	0.35
<i>p^d</i>	0.00*	0.00*	0.01*	-	-	-
PCT (pg/mL)						
<i>Grupo QD</i>	115.45 ± 232.55 4 (0-140.45)	120.58 ± 226.09 0 (0-200.91)	87.50 ± 185.29 0 (0-63.73)	0.80	0.54	0.84
<i>Grupo FMD</i>	3.31 ± 4.36 1.79 (0.44-4.81)	16.91 ± 62.41 1.50 (0.35-3.24)	1.80 ± 1.50 1.31 (0.54-3.17)	0.81	0.27	0.06
<i>p^d</i>	0.51	0.58	0.75			
PCR (mg/L)						
<i>Grupo QD</i>	6.31 ± 6.58 4.06 (1.62-11.95)	10.43 ± 7.56 9.15 (3.08-16.54)	10.15 ± 7.88 8.55 (3.52-14.48)	0.01*	0.84	0.01*
<i>Grupo FMD</i>	8.23 ± 6.54 6.32 (3.62-12.70)	11.03 ± 8.79 9.02 (3.61-16.18)	11.40 ± 9.16 8.39 (3.51-17.81)	0.11	0.50	0.09
<i>p^d</i>	0.263	0.850	0.770			

Notas:

Dados expressos como (média ± desvio-padrão / mediana e intervalo interquartilico).

p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): valores obtidos a partir da comparação intragrupos (Teste dos postos assinalados de Wilcoxon).

p^d: valores obtidos a partir da comparação intergrupos (Teste de Mann Whitney).

*p-valor < 0.05.

T1: *baseline*, antes do TPNC; T2: 24 horas após o TPNC; T3: 48 horas após o TPNC.

Por fim, foi realizado uma análise de correlação através do Teste de Correlação de Pearson entre os níveis séricos de NT-proBNP, biomarcadores circulantes e um dos parâmetros clínicos periodontais que refletia a atividade clínica de doença (PISA). Conforme mostrado na Tabela 6, uma correlação positiva moderada foi evidenciada entre NT-proBNP e TNF- α para ambos os grupos (QD p < 0.05; FMD p < 0.05; amostra total p < 0.05) e IL-6 apenas para o grupo FMD (p < 0.05) e quando toda a amostra foi considerada para análise (p < 0.05).

Tabela 4. Níveis sistêmicos de citocinas (pg/ml) ao longo do estudo nos grupos QD (n = 17) e FMD (n = 17).

	T1	T2	T3	p^a	p^b	p^c
IL-6 (pg/mL)						
<i>Grupo QD</i>	0.09 ± 0.04 0.09 (0.07- 0.09)	0.11 ± 0.04 0.09 (0.08- 0.13)	0.11 ± 0.06 0.09 (0.08- 0.11)	0.05	0.38	0.03*
<i>Grupo FMD</i>	0.04 ± 0.03 0.03 (0.02- 0.03)	0.06 ± 0.05 0.03 (0.02- 0.10)	0.05 ± 0.04 0.03 (0.02- 0.09)	0.12	0.24	0.33
<i>p^d</i>	0.00*	0.00*	0.00*	-	-	-
TNF-α (pg/mL)						
<i>Grupo QD</i>	0.07 ± 0.02 0.06 (0.06- 0.09)	0.08 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.07 ± 0.02 0.06 (0.06- 0.09)	0.04*	0.06	0.67
<i>Grupo FMD</i>	0.07 ± 0.01 0.07 (0.06- 0.08)	0.08 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.07 ± 0.01 0.07 (0.06- 0.09)	0.08	0.73	0.07
<i>p^d</i>	0.99	0.99	0.57	-	-	-

Notas:

Dados expressos como (média ± desvio-padrão / mediana e intervalo interquartílico).

p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): valores obtidos a partir da comparação intragrupos (Teste dos postos assinalados de Wilcoxon).

p^d: valores obtidos a partir da comparação intergrupos (Teste de Mann Whitney).

*p-valor < 0.05.

T1: *baseline*, antes do TPNC; T2: 24 horas após o TPNC; T3: 48 horas após o TPNC.

Tabela 5. Níveis sistêmicos de biomarcadores circulantes ao longo do estudo considerando toda a amostra (n=34).

	T1	T2	T3	p^a	p^b	p^c
COP (pg/mL)	0.31 ± 1.03 0 (0- 0)	0.06 ± 0.30 0 (0- 0)	0.11 ± 0.40 0 (0- 0)	0.04*	0.07	0.20
BNP (pg/mL)	12.31 ± 24.28 3.92 (0- 9.65)	11.24 ± 20.16 3.39 (0- 10.45)	11.43 ± 20.76 3.88 (0- 11.30)	0.58	0.96	0.90
nt-proBNP (pg/mL)	0.11 ± 0.04 0.10 (0.08- 0.12)	0.11 ± 0.03 0.10 (0.08- 0.12)	0.11 ± 0.02 0.11 (0.08- 0.12)	0.52	0.48	0.26
IL-6 (pg/mL)	0.07 ± 0.04 0.07 (0.03- 0.09)	0.08 ± 0.05 0.09 (0.03- 0.12)	0.08 ± 0.06 0.08 (0.03- 0.10)	0.01*	0.12	0.01*
TNF-α (pg/mL)	0.07 ± 0.01 0.07 (0.06- 0.09)	0.08 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.07 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.00*	0.06	0.41
PCT (pg/mL)	59.38 ± 171.66 2,26 (0-13.30)	68.75 ± 171.58 1,48 (0-4.36)	44.66 ± 136.16 1,22 (0-4.04)	0.95	0.40	0.32
PCR (mg/L)	7.31 ± 6.54 4.53 (2.04-11.29)	10.73 ± 8.08 9.08 (3.65-16.27)	10.78 ± 8.44 8.47 (3.79-15.50)	0.005*	0.562	0.003*

Notas:

Dados expressos como (média ± desvio-padrão / mediana e intervalo interquartilico).

p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): valores obtidos a partir da comparação intragrupos (Teste dos postos assinalados de Wilcoxon).

p^d: valores obtidos a partir da comparação intergrupos (Teste de Mann Whitney).

*p-valor < 0.05.

T1: *baseline*, antes do TPNC; T2: 24 horas após o TPNC; T3: 48 horas após o TPNC.

Tabela 6. Correlação entre níveis séricos de NT-proBNP, biomarcadores e parâmetro clínico periodontal.

		Biomarcadores			Parâmetro clínico periodontal
		BNP	IL-6	TNF-α	PISA
<i>Grupo QD</i> (n=17)	R	-,105	,127	,538*	-,208
	p	,689	,627	,026	,423
<i>Grupo FMD</i> (n=17)	R	-,091	,683**	,668**	-,104
	p	,728	,002	,003	,690
<i>Amostra total</i> (n=34)	R	-0,072	,423*	,521**	-,104
	p	0,684	0,013	0,002	,560

Notas:

Teste de Correlação de Pearson. R: coeficiente de correlação. p: p valor.

** A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

* A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

O Teste de Correlação de Pearson (Tabela 7) entre os parâmetros periodontais no *baseline* e as concentrações de PCT e PCR mostrou correlação significativa apenas para PCR no Grupo FMD ($p < 0.05$). Os dados não mostraram associações entre os valores de PCT e parâmetros clínicos ($p > 0.05$).

Tabela 7. Correlações entre os valores iniciais (baseline) de PCT e PCR parâmetros clínicos periodontais.

		Parâmetros clínicos periodontais							
		IP		SS		PS		NIC	
		R	<i>p</i>	R	<i>p</i>	R	<i>p</i>	R	<i>p</i>
PCT (pg/ml)	<i>Grupo QD</i>	-0.14	0.58	-0.32	0.20	-0.21	0.40	-0.11	0.67
	<i>Grupo FMD</i>	-0.9	0.74	-0.15	0.57	-0.22	0.40	-0.11	0.67
PCR (mg/L)	<i>Grupo QD</i>	0.17	0.50	-0.25	0.92	0.09	0.73	0.15	0.58
	<i>Grupo FMD</i>	0.48	0.05	0.51*	0.04*	0.56*	0.02*	0.57*	0.02*

Notas:

Teste de Correlação de Pearson. R: coeficiente de correlação. *p*: p valor.

*Correlação significativa no nível 0.05 (2 extremidades).

6. Discussão

6. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar a resposta de fase aguda ao TPNC em pacientes com periodontite através do monitoramento de biomarcadores relacionados à sepse e a eventos cardiovasculares agudos em diferentes tempos experimentais. O estudo preconizou o tempo experimental de 24 e 48 horas para avaliar a resposta aguda precoce e tardia aos estímulos, respectivamente. Os resultados demonstram que o TPNC, na modalidade QD ou FMD, não elevou os biomarcadores avaliados a um nível considerado de risco para eventos cardiovasculares e sepse.

Estudos clínicos clássicos já demonstraram que existe uma resposta de fase aguda após o TPNC levando ao aumento transitório de algumas proteínas/ biomarcadores, como a PCR (Graziani *et al.*, 2010; Graziani *et al.*, 2015). Além disso, bacteremia e lesão tecidual resultante do tratamento periodontal podem atuar como estímulos adicionais para a liberação dessas proteínas (Konkel *et al.*, 2019).

Conhecida atualmente “Sepse 3”, a sepse é definida como disfunção orgânica com risco de vida como consequência de uma resposta do hospedeiro à infecção (Sartelli *et al.*, 2018). Existem mais de 200 biomarcadores relacionados à sepse, dentre eles, proteínas pró-inflamatórias de fase aguda (PCR, PCT, interleucinas) (Tschakowsky *et al.*, 2011) e citocinas (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α etc.) (Andaluz-Ojeda *et al.*, 2012).

A periodontite está ligada ao aumento dos níveis séricos de várias proteínas de fase aguda, como a PCR e a PCT (Bassim *et al.*, 2008; Giannopoulou *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013; Hendek *et al.*, 2015; Muller Campanile *et al.*, 2015; Yousefimanesh *et al.*, 2015; Giannopoulou *et al.*, 2016; Redman *et al.*, 2016; Leira *et al.*, 2018; Selvadurai *et al.*, 2019; Sravya *et al.*, 2019; Mohan *et al.*, 2021). Tais biomarcadores também são considerados importantes no diagnóstico precoce (Sinha *et al.*, 2011) e no monitoramento do tratamento da sepse (Prkno *et al.*, 2013).

A literatura relata que em indivíduos saudáveis as concentrações de PCT são baixas (Zhang *et al.*, 2013; Redman *et al.*, 2016; Selvadurai *et al.*, 2019) e que também pode ser liberada em resposta a trauma tecidual e bacteremia (Meisner, 2014; Dolin *et al.*, 2018). Assim, a seleção de pacientes sem fatores de risco no presente estudo foi extremamente rigorosa para avaliar se o tratamento periodontal, já associado a um aumento transitório de PCR (Graziani *et al.*, 2010; Graziani *et al.*, 2015), poderia elevar os níveis sistêmicos de PCT para níveis de risco de infecção sistêmica. Após o estímulo, a PCT tem um aumento relativo 2-4 horas e uma meia-vida de 22-26 horas (Dolin *et al.*, 2018).

Estudos clássicos confirmam que o TPNC resulta em níveis sistêmicos elevados de PCR nas primeiras 24 horas (Graziani *et al.*, 2010; Graziani *et al.*, 2015a; Morozumi *et al.*, 2018; Machado *et al.*, 2021), com a modalidade FMD mostrando um maior aumento quando comparado ao QD (Graziani *et al.*, 2015a; Machado *et al.*, 2021). Nossos dados estão de acordo com a literatura, uma vez que os níveis sistêmicos de PCR aumentaram ao longo dos tempos experimentais, sendo detectado um aumento maior nas primeiras 24 horas após o TPNC. Tal resultado pode ser explicado pela liberação contínua de produtos bacterianos e mediadores inflamatórios em resposta ao trauma tecidual e bacteremia, que induzem a liberação de PCR no fígado (Hajishengallis, 2015; Konkel *et al.*, 2019)

As concentrações iniciais (*baseline*) de PCT variaram amplamente entre os indivíduos participantes do estudo e a frequência de amostras abaixo do limite de detecção do kit usado para análise deste biomarcador (27.43-20.000 pg/mL) foi consideravelmente alta. As possíveis explicações podem ser a sensibilidade do teste selecionado, insuficiente para detectar concentrações mais baixas, e o perfil da amostra, composta em geral por pacientes sem condições sistêmicas graves.

A bacteremia transitória monitorada através da concentração de PCT no soro e na saliva foi recentemente avaliada imediatamente e uma hora após o TPNC (Mohan *et al.*, 2021). Os autores observaram que a concentração sérica de PCT após o TPNC aumentou imediatamente e, ao final de duas semanas, os níveis de PCT diminuíram, sugerindo que os níveis séricos de PCT poderiam refletir a carga microbiana dos indivíduos (Mohan *et al.*, 2021). Os dados do presente estudo, embora também demonstrem um aumento na concentração de PCT nas primeiras 24 horas, esse aumento não pode ser considerado relevante. Uma provável explicação para esse resultado seria pelo fato de em indivíduos saudáveis, à medida que as bactérias entram na corrente sanguínea, são prontamente removidas por células fagocitárias e o estímulo à liberação de PCT é interrompido. Além disso, a diferença no tamanho da amostra entre os estudos e os imuno ensaios enzimáticos de diferentes fabricantes e sensibilidades podem contribuir para essa diferença.

Conforme evidenciado em pacientes com artrite reumatoide, os níveis de PCT e PCR em indivíduos com periodontite moderada/grave foram maiores do que naqueles sem periodontite e ainda maiores entre aqueles com diabetes (Redman *et al.*, 2016), confirmando assim que doenças sistêmicas podem contribuir para a elevação da PCT (Rudd *et al.*, 2020). Outro estudo demonstrou que pacientes com periodontite PC e enxaqueca crônica MC apresentavam níveis séricos de PCT mais elevados do que aqueles sem MC e CP, e que a PC estava associada a níveis mais altos de PCT em pacientes com MC (Leira *et al.*, 2018). Já em

um outro ensaio clínico, as concentrações séricas e salivares de PCT em pacientes com periodontite e diabetes foram significativamente maiores do que os do grupo controle (sem periodontite, sem diabetes) (Bassim *et al.*, 2008). No presente estudo, mesmo pacientes com periodontite apresentaram valores indetectáveis e assim como Bassim e colaboradores (2008) (Bassim *et al.*, 2008), a PCT sérica não foi correlacionada com os parâmetros periodontais no *baseline*.

Em contraste com os resultados do presente estudo, Selvadurai e colaboradores (2019) (Selvadurai *et al.*, 2019) registraram uma forte correlação entre os parâmetros clínicos periodontais e os níveis séricos de PCT em pacientes com periodontite. Adicionalmente, em indivíduos periodontalmente saudáveis, as concentrações séricas de PCT detectadas foram mais baixas do que nos pacientes com periodontite (Selvadurai *et al.*, 2019). Resultados semelhantes foram registrados no soro (Zhang *et al.*, 2013) e na saliva (Hendek *et al.*, 2015) de pacientes com periodontite agressiva, onde a concentração de PCT foi maior do que em indivíduos saudáveis, consistente com infecção local, ou seja, concentrações entre 0.05 e 0.5 ng/mL (Vijayan *et al.*, 2017).

Uma análise realizada em amostras de doadores de sangue considerados saudáveis, 41.7% apresentavam periodontite e em 67.5% não foi detectada a presença de PCT (Ziebolz *et al.*, 2007). Nos demais doadores, a concentração sistêmica de PCT não ultrapassou 0.4 ng/mL (Ziebolz *et al.*, 2007). Assim como no presente estudo, resultados semelhantes em relação à baixa concentração de PCT foram encontrados mesmo quando consideradas as formas mais graves da doença (Ziebolz *et al.*, 2007; Schmalz *et al.*, 2019).

A inflamação crônica caracterizada por uma elevação sistêmica de proteínas de fase aguda, como a PCR, é um evento importante que pode associar a periodontite a inflamações sistêmicas como a sepse. A literatura é consistente ao comprovar que pacientes com periodontite apresentam concentrações mais altas de PCR do que indivíduos saudáveis, independentemente da avaliação laboratorial ou modalidade de tratamento adotada (Ide *et al.*, 2004; D'aiuto *et al.*, 2013; Almaghlouth *et al.*, 2014; Graziani *et al.*, 2015a; Machado *et al.*, 2021). A inflamação desencadeada pelo biofilme dental disbiótico é conhecida por elevar sistemicamente mediadores inflamatórios como IL-1, IL-6, PCR e fibrinogênio (Bokhari *et al.*, 2012; D'aiuto *et al.*, 2013). A disseminação desses mediadores, além das bactérias periodontais e seus produtos na corrente sanguínea, desencadeia uma resposta inflamatória sistêmica (Machado *et al.*, 2021). Essa reação inflamatória sistêmica também pode ser causada por deglutição salivar e colonização intestinal por patógenos periodontopatogênicos (Hajishengallis e Chavakis, 2021; Machado *et al.*, 2021). Assim, a produção de PCR é induzida por mediadores

inflamatórios localmente, bem como pela estimulação de hepatócitos (Ebersole e Cappelli, 2000).

Podem existir duas prováveis explicações para a PCR estar relacionada a níveis séricos mais elevados de PCT. Uma delas é que as bolsas periodontais proporcionam uma superfície grande e ulcerada, tornando mais fácil para as bactérias periodontais e mediadores inflamatórios atingirem a circulação sistêmica (Leira *et al.*, 2018). Outra explicação seria a liberação regular, em resposta à bacteremia, pelas células da tireoide (Dolin *et al.*, 2018; Paudel *et al.*, 2020). Em relação à inflamação periodontal, é importante ressaltar que o NSPT é crucial para a resolução do processo inflamatório e restabelecimento da saúde periodontal, independentemente da abordagem clínica selecionada (Tomasi e Wennstrom, 2009). Com a resolução da inflamação, a fonte de nutrientes resultante da degradação dos tecidos periodontais se extingue, contribuindo para a reversão do estado de disbiose (Van Dyke, 2020). Uma alternativa plausível seria avaliar se a associação de Mediadores Pró-Resolutivos Especializados (SPMs) com TPNC, principalmente em pacientes com inflamação sistêmica crônica, poderia reduzir a resposta aguda ao tratamento periodontal, colocando-os em menor risco de inflamação e infecção, reduzindo a resposta inflamatória exacerbada ao dano tecidual e bacteremia.

Em geral, estudos clínicos que avaliaram as concentrações séricas de PCT são distintos em alguns pontos, especialmente no delineamento experimental. Dentre as diferenças metodológicas, podemos citar os critérios utilizados para o diagnóstico de periodontite, o perfil da amostra e método de análise das amostras. Diferenças metodológicas podem contribuir para resultados distintos em relação a variação nas concentrações de PCT em tempos experimentais e distintos e sua correlação com parâmetros clínicos periodontais.

Como esperado, todos os parâmetros periodontais (IP, SS, PS, NIC e PISA) melhoraram após TPNC em ambos os grupos. Em relação à lesão tecidual, bacteremia e estresse do tratamento periodontal, observou-se aumento na expressão de IL-6 e TNF- α nas primeiras 24-48 horas. No geral, uma discreta redução nas concentrações de BNP foi observada nas primeiras 24 horas após o tratamento periodontal. Além disso, houve uma leve redução do NT-proBNP nas primeiras 24 horas no Grupo FMD.

O BNP é um neuro-hormônio sintetizado no ventrículo e liberado na circulação sanguínea em resposta à dilatação ventricular e sobrecarga de pressão na parede miocárdica (De Lemos *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004). O BNP e seu pró-hormônio NT-proBNP são considerados importantes marcadores de prognóstico para DCV, como infarto agudo do miocárdio, angina instável e arritmias (Wang *et al.*, 2004; Ogawa *et al.*, 2006). A intensidade do estímulo e a resposta ao estresse dependem da magnitude e duração do fator causador de

estresse (Amir *et al.*, 2010). BNP e NT-proBNP são mais fortemente correlacionados com a idade e variam amplamente ao longo do tempo, mesmo em pacientes clinicamente estáveis (Voors *et al.*, 2009).

O estresse que desencadeia a liberação de BNP e NT-proBNP pode ser psicológico (Antoni *et al.*, 1992) ou resultado de um estresse/ sobrecarga física (Amir *et al.*, 2010; Leira e Blanco, 2018). Há pouca evidência na literatura ligando o estresse psicológico a níveis sistêmicos mais baixos de BNP e NT-proBNP. Isso provavelmente se deve aos diferentes mecanismos envolvidos em sua liberação. O estresse físico resulta em uma liberação mais marcante, diretamente no músculo cardíaco (Amir *et al.*, 2010). Em situações de estresse psicológico, o peptídeo natriurético atrial (ANP) é liberado na via hipotálamo-hipófise, suprimindo diretamente a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), caracterizando uma via hipotalâmica (Antoni *et al.*, 1992). Assim, como os sistemas cardíaco e hipotalâmico são separados, os níveis circulantes de BNP e NT-proBNP são resultado da estimulação e liberação atrial (Antoni *et al.*, 1992; Amir *et al.*, 2010). Os resultados do presente estudo poderiam ser explicados pelo fato de que o tratamento periodontal, independente da modalidade, embora cause lesão tecidual, o estímulo não seria suficiente para provocar a liberação de BNP e NT-proBNP pela via cardíaca. A literatura relata que uma das consequências da periodontite é o estresse (Pasnik-Chwalik e Konopka, 2020). Além do estresse da sessão clínica, tal estímulo resultaria em liberação de BNP e NT-proBNP pelo sistema hipotalâmico, que não é detectado na circulação sistêmica. Isso poderia explicar por que, no presente estudo, os níveis sistêmicos de BNP foram reduzidos e o NT-proBNP não sofreu alterações significativas.

Os níveis séricos de NT-proBNP podem estar aumentados na ausência de disfunção cardíaca como consequência da inflamação sistêmica (Jensen *et al.*, 2010), sugerindo que a inflamação periodontal pode contribuir para níveis séricos elevados de NT-proBNP (Leira e Blanco, 2018). Uma forte correlação positiva entre os parâmetros clínicos periodontais e as concentrações séricas de NT-proBNP foi encontrada em pacientes com periodontite e com condições crônicas associadas (Leira e Blanco, 2018), diferentemente dos resultados do presente estudo, onde essa correlação não foi encontrada. Podemos especular que essa diferença se deve ao fato da amostra do presente estudo não envolver pacientes considerados de risco cardiovascular, como fumantes e diabéticos. A decisão de não incluir pacientes de risco cardiovascular neste estudo foi baseada no cuidado em não colocar os pacientes intencionalmente sob estresse e lesão tecidual para avaliar biomarcadores séricos.

A intensidade de uma resposta aguda do organismo após diferentes tipos de terapia periodontal foi descrita pela primeira vez por um estudo de coorte prospectivo. Os resultados demonstram que as terapias periodontais induzem respostas inflamatórias sistêmicas agudas de diferentes magnitudes, incluindo alterações na coagulação (Graziani *et al.*, 2010). Como já mencionado anteriormente, imediatamente após a intervenção, os pacientes tratados com TPNC apresentam aumento de TNF- α , PCR e IL-6 devido ao trauma causado pela instrumentação dos tecidos periodontais e consequentemente inoculação de bactérias na corrente sanguínea (Ide *et al.*, 2004; Tonetti *et al.*, 2007).

Após um protocolo de duas horas de raspagem de boca inteira e alisamento radicular em sessão única, um dia após o tratamento, Morozumi e colaboradores (2018) detectaram um aumento de 5 vezes nas concentrações séricas de IL-6 e um aumento de 1.1 vezes para TNF- α (Morozumi *et al.*, 2018). Considerando que no presente estudo, o protocolo de boca completa foi concluído em 24 horas, e foi encontrado 1,5 vezes para IL-6 e 1,1 vezes para TNF- α , consistente com a literatura (Ide *et al.*, 2004; D'aiuto *et al.*, 2007; Graziani *et al.*, 2015a; Morozumi *et al.*, 2018).

Ao comparar diferentes abordagens de TPNC, o protocolo FMD induziu uma elevação mais significativa nos níveis séricos de IL-6 e TNF- α do que QD (Graziani *et al.*, 2015a). Embora as concentrações de tais biomarcadores tenham aumentado, os resultados do presente estudo só alcançam significância estatística para TNF- α no grupo QD. Tal resultado poderia ser explicado por alguma variabilidade capaz de influenciar essa reação de fase aguda, como o estado periodontal da amostra, a duração da instrumentação e a resposta imune do indivíduo participante dos estudos (Morozumi *et al.*, 2018).

Em ambos os grupos do presente ensaio clínico, não foram detectados níveis séricos de COP na maioria dos pacientes envolvidos no estudo. A COP é derivada de um peptídeo precursor (preprovasopressina), juntamente com neurofisina II e arginina vasopressina (AVP) e é liberada em quantidades equimolares a AVP pelo hipotálamo em resposta à hipovolemia e alterações na osmolaridade plasmática (Morgenthaler *et al.*, 2008). A concentração sérica de COP aumenta em várias condições clínicas, como doenças cardiovasculares (Parizadeh *et al.*, 2018). Até o presente momento, nenhuma publicação relaciona a periodontite ou o tratamento periodontal a alterações nos níveis de COP. Nossos dados sugerem que o tratamento periodontal, independentemente da modalidade utilizada, não foi capaz de induzir estresse em um nível significativo para induzir a liberação de COP.

Existem evidências sólidas sugerindo um risco aumentado de eventos cardiovasculares, como ataque cardíaco, em pacientes com periodontite (Hada *et al.*, 2015; Ryden *et al.*, 2016; Fagundes *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2019; Orlandi *et al.*, 2020; Tiansripojarn *et al.*, 2021) e como o tratamento periodontal pode reduzir esse risco a longo prazo (Bokhari *et al.*, 2012; Roca-Millan *et al.*, 2018; Orlandi *et al.*, 2020). Além disso, dados de meta-análises de estudos observacionais estabeleceram uma ligação entre doença periodontal e DCVs com ORs de 1.18 a 2.93 (Blaizot *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2017). Alguns mecanismos podem estar relacionados a essa associação. Ao entrar na corrente sanguínea através do epitélio ulcerado das bolsas periodontais, os patógenos e seus produtos podem alterar diretamente a patogênese da doença cardiovascular (Aimetti *et al.*, 2007; Van Dyke e Van Winkelhoff, 2013). Fatores de risco potenciais, como inflamação sistêmica de baixo grau da periodontite e o mecanismo biológico dessa associação, ainda estão sendo investigados atualmente.

Considerar a hipótese de que a terapia periodontal pode aumentar marcadores relacionados ao estresse cardiovascular em curto prazo devido à lesão tecidual e resposta inflamatória aguda é razoável. Os dados do presente estudo mostram que ambas as modalidades de terapia periodontal não cirúrgica aumentam a inflamação local transitória. Alterações gerais na inflamação sistêmica foram explicitamente observadas para duas citocinas (IL-6 e TNF- α), em linha com a literatura (Ide *et al.*, 2004; Graziani *et al.*, 2010; Giannopoulou *et al.*, 2012; Graziani *et al.*, 2015; Morozumi *et al.*, 2018). Mesmo considerando que IL-6, TNF e BNP também estão elevados na periodontite, as diferenças significativas entre os grupos observadas nas análises devem ser interpretadas com cautela devido ao tamanho reduzido da amostra para comparações.

Em resumo, marcadores específicos de eventos cardiovasculares agudos, como a COP, parecem não estar alterados em pacientes com periodontite, como também não se altera devido ao TPNC nas primeiras 48 horas. Por outro lado, o BNP em pacientes sistemicamente saudáveis teve sua concentração sistêmica reduzida em ambos os grupos nas primeiras 48 horas após o TPNC, e o NT-proBNP não sofreu alterações significativas.

Os resultados do presente estudo podem ser relevantes para o manejo de futuras intervenções em pacientes com maior risco de sepse, como por exemplo, pacientes imunocomprometidos ou em internados em UTI. Além disso, pode fornecer informações sobre a potencial necessidade de terapia de modulação da inflamação do hospedeiro como terapia adjuvante em pacientes suscetíveis.

Adicionalmente, podemos sugerir que o TPNC, independentemente da modalidade adotada, parece não colocar os pacientes em risco de desenvolver eventos cardiovasculares

agudos nas primeiras 48 horas após o tratamento. Além disso, ambas as modalidades resultaram em uma redução de curto prazo do BNP, reduzindo até mesmo o risco de curto prazo de um evento cardiovascular agudo. No presente estudo, usamos o conceito de que Il-6, TNF e BNP também estão elevados na periodontite. As diferenças significativas entre os grupos observadas nas análises devem ser interpretadas com cautela devido ao tamanho reduzido da amostra para comparações.

O presente estudo apresenta limitações. Embora suficiente para atingir o poder adequado, o tamanho da amostra pode ser considerado subdimensionado para um ensaio clínico. Foi tomado um cuidado extra no desenho experimental para não expor um indivíduo suscetível a riscos ainda desconhecidos em um curto prazo. Portanto, esses dados precisam ser ainda mais validados por um estudo com uma amostra maior, maior acompanhamento pós-tratamento e, talvez, com a inclusão de pacientes com condições sistêmicas e de risco presumivelmente maior.

Quando questionados sobre eventos adversos, os pacientes não relataram aumento da temperatura corporal, exceto um paciente á citado. A aferição da temperatura corporal no *baseline* e nos diferentes tempos experimentais teria sido de grande valia. Finalmente, a inclusão de um grupo experimental sem doença periodontal para avaliações complementar as informações sobre as concentrações de PCT em indivíduos saudáveis.

Assim, podemos inferir que o tratamento periodontal, mesmo gerando bacteremia sistêmica e aumento transitório da inflamação aguda, é seguro para ser realizado em pacientes sistemicamente saudáveis pois não colocam o paciente em uma faixa de risco de desenvolver eventos cardiovasculares agudos ou sepse nas primeiras 48 horas após TPNC, independente da modalidade terapêutica adotada (FMD ou QD). Mais estudos com amostras maiores, incluindo pacientes com doenças sistêmicas, são necessários para melhor fundamentar a decisão de qual terapia utilizar em pacientes que já são classificados como de maior risco cardiovascular.

7. Conclusão

7. CONCLUSÃO

Os parâmetros clínicos periodontais (PS, NIC, SS, IP e PISA) em ambos os grupos tiveram uma melhora significativa após 45 dias. Dentro dos limites do estudo, pode-se concluir que o tratamento periodontal, independente da modalidade utilizada (QD ou FMD), mesmo induzindo a uma resposta inflamatória de curto prazo evidenciada no aumento de biomarcadores inflamatórios, é seguro de ser realizado em pacientes sistemicamente saudáveis com periodontite, não os colocando em uma faixa de risco de sepse e eventos cardiovasculares agudos nas primeiras 48 horas após o TPNC.

Referências

AIMETTI, M.; ROMANO, F.; NESSI, F. Microbiologic analysis of periodontal pockets and carotid atheromatous plaques in advanced chronic periodontitis patients. **J Periodontol**, v. 78, n. 9, p. 1718-23, Sep 2007.

ALMAGHLOUTH, A. A. et al. Effect of periodontal treatment on peak serum levels of inflammatory markers. **Clin Oral Investig**, v. 18, n. 9, p. 2113-21, Dec 2014.

AMIR, O. et al. The response of circulating brain natriuretic peptide to academic stress in college students. **Stress**, v. 13, n. 1, p. 83-90, Jan 2010. I

ANDALUZ-OJEDA, D. et al. A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. **Cytokine**, v. 57, n. 3, p. 332-6, Mar 2012.

ANITHA, V. et al. Estimation of high sensitivity C-reactive protein in patients with periodontal disease and without coronary artery disease. **Indian J Dent Res**, v. 26, n. 5, p. 500-3, Sep-Oct 2015.

ANTONI, F. A. et al. Atriopeptin: an endogenous corticotropin-release inhibiting hormone. **Endocrinology**, v. 130, n. 3, p. 1753-5, Mar 1992.

ASSICOT, M. et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. **Lancet**, v. 341, n. 8844, p. 515-8, Feb 27 1993.

BAHEKAR, A. A. et al. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis. **Am Heart J**, v. 154, n. 5, p. 830-7, Nov 2007.

BARTOLD, P. M.; VAN DYKE, T. E. Host modulation: controlling the inflammation to control the infection. **Periodontol 2000**, v. 75, n. 1, p. 317-329, Oct 2017.

BASSIM, C. W. et al. Salivary procalcitonin and periodontitis in diabetes. **J Dent Res**, v. 87, n. 7, p. 630-4, Jul 2008.

BATTY, G. D. et al. Oral health and later coronary heart disease: Cohort study of one million people. **Eur J Prev Cardiol**, v. 25, n. 6, p. 598-605, Apr 2018.

BECK, J. D.; OFFENBACHER, S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. **J Periodontol**, v. 76, n. 11 Suppl, p. 2089-100, Nov 2005.

BLAIZOT, A. et al. Periodontal diseases and cardiovascular events: meta-analysis of observational studies. **Int Dent J**, v. 59, n. 4, p. 197-209, Aug 2009.

BOKHARI, S. A. et al. Non-surgical periodontal therapy reduces coronary heart disease risk markers: a randomized controlled trial. **J Clin Periodontol**, v. 39, n. 11, p. 1065-74, Nov 2012.

BONEAU, C. A. The effects of violations of assumptions underlying the test. **Psychol Bull**, v. 57, p. 49-64, Jan 1960.

BOUADMA, L. et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. **Lancet**, v. 375, n. 9713, p. 463-74, Feb 6 2010.

CAI, B.; DEITCH, E. A.; ULLOA, L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis and hemorrhage. **Mediators Inflamm**, v. 2010, p. 642462, 2010.

CARROL, E. D.; THOMSON, A. P.; HART, C. A. Procalcitonin as a marker of sepsis. **Int J Antimicrob Agents**, v. 20, n. 1, p. 1-9, Jul 2002.

CAVAILLON, J. M.; SINGER, M.; SKIRECKI, T. Sepsis therapies: learning from 30 years of failure of translational research to propose new leads. **EMBO Mol Med**, v. 12, n. 4, p. e10128, Apr 7 2020.

CHAN, D.; NG, L. L. Biomarkers in acute myocardial infarction. **BMC Med**, v. 8, p. 34, Jun 7 2010.

CHEN, M. X. et al. Global, regional, and national burden of severe periodontitis, 1990-2019: An analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. **J Clin Periodontol**, v. 48, n. 9, p. 1165-1188, Sep 2021.

CZERNIUK, M. R. et al. Plasmatic NT-proBNP concentrations in patients with coexistent periodontal disease and congestive heart failure: pilot studies. **Kardiol Pol**, v. 75, n. 2, p. 135-142, 2017.

D'AIUTO, F.; ORLANDI, M.; GUNSOLLEY, J. C. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. **J Clin Periodontol**, v. 40 Suppl 14, p. S85-105, Apr 2013.

D'AIUTO, F.; PARKAR, M.; TONETTI, M. S. Acute effects of periodontal therapy on biomarkers of vascular health. **J Clin Periodontol**, v. 34, n. 2, p. 124-9, Feb 2007.

D'AIUTO, F. et al. Systemic effects of periodontitis treatment in patients with type 2 diabetes: a 12 month, single-centre, investigator-masked, randomised trial. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 6, n. 12, p. 954-965, Dec 2018.

DANDONA, P. et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 79, n. 6, p. 1605-8, Dec 1994.

DANESH, J. et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **N Engl J Med**, v. 350, n. 14, p. 1387-97, Apr 1 2004.

DANESH, J. et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. **BMJ**, v. 321, n. 7255, p. 199-204, Jul 22 2000.

DEKKER, R. L. et al. Salivary Biomarkers, Oral Inflammation, and Functional Status in Patients With Heart Failure. **Biol Res Nurs**, v. 19, n. 2, p. 153-161, Mar 2017.

DE LEMOS, J. A.; MCGUIRE, D. K.; DRAZNER, M. H. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. **Lancet**, v. 362, n. 9380, p. 316-22, Jul 26 2003.

DEUTSCHMAN, C. S.; TRACEY, K. J. Sepsis: current dogma and new perspectives. **Immunity**, v. 40, n. 4, p. 463-75, Apr 17 2014.

DOLIN, H. H. et al. A Novel Combination of Biomarkers to Herald the Onset of Sepsis Prior to the Manifestation of Symptoms. **Shock**, v. 49, n. 4, p. 364-370, Apr 2018.

EBERSOLE, J. L.; CAPPELLI, D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. **Periodontol 2000**, v. 23, p. 19-49, Jun 2000.

EBERSOLE, J. L. et al. Salivary and serum adiponectin and C-reactive protein levels in acute myocardial infarction related to body mass index and oral health. **J Periodontal Res**, v. 52, n. 3, p. 419-427, Jun 2017.

EKE, P. I. et al. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. **J Periodontol**, v. 83, n. 12, p. 1449-54, Dec 2012.

FAGUNDES, N. C. F. et al. Periodontitis As A Risk Factor For Stroke: A Systematic Review And Meta-Analysis. **Vasc Health Risk Manag**, v. 15, p. 519-532, 2019.

FANG, H. et al. Comparison of full-mouth disinfection and quadrant-wise scaling in the treatment of adult chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **J Periodontal Res**, v. 51, n. 4, p. 417-30, Aug 2016.

FARMAN, M.; JOSHI, R. I. Full-mouth treatment versus quadrant root surface debridement in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review. **Br Dent J**, v. 205, n. 9, p. E18; discussion 496-7, Nov 8 2008.

FLORIANO, P. N. et al. Use of saliva-based nano-biochip tests for acute myocardial infarction at the point of care: a feasibility study. **Clin Chem**, v. 55, n. 8, p. 1530-8, Aug 2009.

FRIEDEWALD, V. E. et al. The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology editors' consensus: periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. **J Periodontol**, v. 80, n. 7, p. 1021-32, Jul 2009.

FUSTER, V. Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. **Circulation**, v. 90, n. 4, p. 2126-46, Oct 1994.

GAMONAL, J. et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section I: Introduction part I. **Braz Oral Res**, v. 34, n. suppl 1, p. e024, 2020.

GIANNOPOULOU, C. et al. Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. **J Periodontol**, v. 83, n. 8, p. 1018-27, Aug 2012.

GIANNOPOULOU, C. et al. Systemic Biomarkers in 2-Phase Antibiotic Periodontal Treatment: A Randomized Clinical Trial. **J Dent Res**, v. 95, n. 3, p. 349-55, Mar 2016.

GORSKI, B. et al. The Association Between Dental Status and Risk of Acute Myocardial Infarction Among Poles: Case-control Study. **Adv Clin Exp Med**, v. 25, n. 5, p. 861-870, Sep-Oct 2016.

GRAZIANI, F. et al. Acute-phase response following full-mouth versus quadrant non-surgical periodontal treatment: A randomized clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 42, n. 9, p. 843-852, Sep 2015.

GRAZIANI, F. et al. Systemic inflammation following non-surgical and surgical periodontal therapy. **J Clin Periodontol**, v. 37, n. 9, p. 848-54, Sep 2010.

GYAWALI, B.; RAMAKRISHNA, K.; DHAMOON, A. S. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. **SAGE Open Med**, v. 7, p. 2050312119835043, 2019.

HADA, D. S. et al. Effect of Non-Surgical Periodontal Treatment on Clinical and Biochemical Risk Markers of Cardiovascular Disease: A Randomized Trial. **J Periodontol**, v. 86, n. 11, p. 1201-11, Nov 2015.

HAJISHENGALLIS, G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. **Trends Immunol**, v. 35, n. 1, p. 3-11, Jan 2014.

HAJISHENGALLIS, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nat Rev Immunol**, v. 15, n. 1, p. 30-44, Jan 2015.

HAJISHENGALLIS, G.; CHAVAKIS, T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. **Nat Rev Immunol**, v. 21, n. 7, p. 426-440, Jul 2021.

HARRIS, T. B. et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. **Am J Med**, v. 106, n. 5, p. 506-12, May 1999.

HENDEK, M. K.; ERDEMIR, E. O.; KISA, U. Evaluation of salivary procalcitonin levels in different periodontal diseases. **J Periodontol**, v. 86, n. 6, p. 820-6, Jun 2015.

HOSOMI, N. et al. Association of serum anti-periodontal pathogen antibody with ischemic stroke. **Cerebrovasc Dis**, v. 34, n. 5-6, p. 385-92, 2012.

HU, J. X.; THOMAS, C. E.; BRUNAK, S. Network biology concepts in complex disease comorbidities. **Nat Rev Genet**, v. 17, n. 10, p. 615-29, Oct 2016.

HULTHE, J.; FAGERBERG, B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 22, n. 7, p. 1162-7, Jul 1 2002.

IDE, M. et al. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. **J Periodontol**, v. 75, n. 3, p. 420-8, Mar 2004.

IKEDA, U.; ITO, T.; SHIMADA, K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. **Clin Cardiol**, v. 24, n. 11, p. 701-4, Nov 2001.

IKEDA, U.; TAKAHASHI, M.; SHIMADA, K. C-reactive protein directly inhibits nitric oxide production by cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 42, n. 5, p. 607-11, Nov 2003.

JENSEN, J. et al. Inflammation increases NT-proBNP and the NT-proBNP/BNP ratio. **Clin Res Cardiol**, v. 99, n. 7, p. 445-52, Jul 2010.

JIN, L. J. et al. Global burden of oral diseases: emerging concepts, management and interplay with systemic health. **Oral Dis**, v. 22, n. 7, p. 609-19, Oct 2016.

KONKEL, J. E.; O'BOYLE, C.; KRISHNAN, S. Distal Consequences of Oral Inflammation. **Front Immunol**, v. 10, p. 1403, 2019.

KOPPOLU, P. et al. Estimate of CRP and TNF-alpha level before and after periodontal therapy in cardiovascular disease patients. **Pan Afr Med J**, v. 15, p. 92, 2013.

KUMAR, P. S. From focal sepsis to periodontal medicine: a century of exploring the role of the oral microbiome in systemic disease. **J Physiol**, v. 595, n. 2, p. 465-476, Jan 15 2017.

KURGAN, S.; KANTARCI, A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. **Periodontol 2000**, v. 76, n. 1, p. 51-67, Feb 2018.

LEIRA, Y. et al. High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. **J Periodontol**, v. 89, n. 9, p. 1069-1074, Sep 2018.

LEIRA, Y.; BLANCO, J. Brain natriuretic peptide serum levels in periodontitis. **J Periodontal Res**, v. 53, n. 4, p. 575-581, Aug 2018.

LIBBY, P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. **Am J Clin Nutr**, v. 83, n. 2, p. 456S-460S, Feb 2006.

LINSCHIED, P. et al. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. **Crit Care Med**, v. 32, n. 8, p. 1715-21, Aug 2004.

LIU, W. et al. Periodontal therapy for primary or secondary prevention of cardiovascular disease in people with periodontitis. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 12, p. CD009197, Dec 31 2019.

LOO, W. Y. et al. Comparing serum levels of cardiac biomarkers in cancer patients receiving chemotherapy and subjects with chronic periodontitis. **J Transl Med**, v. 10 Suppl 1, p. S5, Sep 19 2012.

LOPEZ, N. J.; GAMONAL, J. A.; MARTINEZ, B. Repeated metronidazole and amoxicillin treatment of periodontitis. A follow-up study. **J Periodontol**, v. 71, n. 1, p. 79-89, Jan 2000.

LOOS, B. G.; VAN DYKE, T. E. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. **Periodontol 2000**, v. 83, n. 1, p. 26-39, Jun 2020.

MACHADO, V. et al. Serum C-Reactive Protein and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Front Immunol**, v. 12, p. 706432, 2021.

MANN, H. B.; WHITNEY, D. R. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. **The Annals of Mathematical Statistics**, v. 18, n. 1, p. 50-60, 11, 1947.

MARCACCINI, A. M. et al. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. **J Periodontol**, v. 80, n. 4, p. 594-602, Apr 2009.

MARFIL-ALVAREZ, R. et al. Acute myocardial infarct size is related to periodontitis extent and severity. **J Dent Res**, v. 93, n. 10, p. 993-8, Oct 2014.

MATWIYOFF, G. N. et al. Immune regulation of procalcitonin: a biomarker and mediator of infection. **Inflamm Res**, v. 61, n. 5, p. 401-9, May 2012.

MEISNER, M. Update on procalcitonin measurements. **Ann Lab Med**, v. 34, n. 4, p. 263-73, Jul 2014.

MIELNICZUK, L. M. et al. Acute decline in renal function, inflammation, and cardiovascular risk after an acute coronary syndrome. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 4, n. 11, p. 1811-7, Nov 2009.

MOHAN, R. et al. Utility of procalcitonin as an early diagnostic marker of bacteremia in individuals with periodontitis Stage II and III. **J Periodontol**, v. 92, n. 7, p. 968-974, Jul 2021.

MORGENTHALER, N. G. et al. Copeptin: clinical use of a new biomarker. **Trends Endocrinol Metab**, v. 19, n. 2, p. 43-9, Mar 2008.

MOROZUMI, T. et al. Increased systemic levels of inflammatory mediators following one-stage full-mouth scaling and root planing. **J Periodontal Res**, v. 53, n. 4, p. 536-544, Aug 2018

MULLER CAMPANILE, V. S. et al. Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 1, p. 27-34, Jan 2015.

NAKAJIMA, T. et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. **J Periodontal Res**, v. 45, n. 1, p. 116-22, Feb 2010.

NESSE, W. et al. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. 8, p. 668-73, Aug 2008.

Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organ Tech Rep Ser**, v. 894, p. i-xii, 1-253, 2000.

OGAWA, A. et al. Difference in elevation of N-terminal pro-BNP and conventional cardiac markers between patients with ST elevation vs non-ST elevation acute coronary syndrome. **Circ J**, v. 70, n. 11, p. 1372-8, Nov 2006.

OPPERMANN, R. V. et al. Epidemiology of periodontal diseases in adults from Latin America. **Periodontol 2000**, v. 67, n. 1, p. 13-33, Feb 2015.

ORLANDI, M.; GRAZIANI, F.; D'AIUTO, F. Periodontal therapy and cardiovascular risk. **Periodontol 2000**, v. 83, n. 1, p. 107-124, Jun 2020.

PANT, A.; MACKRAJ, I.; GOVENDER, T. Advances in sepsis diagnosis and management: a paradigm shift towards nanotechnology. **J Biomed Sci**, v. 28, n. 1, p. 6, Jan 8 2021.

PAPAPANOU, P. N. et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **J Clin Periodontol**, v. 45 Suppl 20, p. S162-S170, Jun 2018.

PARIZADEH, S. M. et al. The diagnostic and prognostic value of copeptin in cardiovascular disease, current status, and prospective. **J Cell Biochem**, v. 119, n. 10, p. 7913-7923, Nov 2018.

PASCERI, V. et al. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2531-4, May 29 2001.

PASNIK-CHWALIK, B.; KONOPKA, T. Impact of periodontitis on the Oral Health Impact Profile: A systematic review and meta-analysis. **Dent Med Probl**, v. 57, n. 4, p. 423-431, Oct-Dec 2020.

PAUDEL, R. et al. Procalcitonin: A promising tool or just another overhyped test? **Int J Med Sci**, v. 17, n. 3, p. 332-337, 2020.

PEARSON, T. A. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 499-511, Jan 28 2003.

PRKNO, A. et al. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock--a systematic review and meta-analysis. **Crit Care**, v. 17, n. 6, p. R291, Dec 11 2013.

PROVAN, S. A. et al. The association between disease activity and NT-proBNP in 238 patients with rheumatoid arthritis: a 10-year longitudinal study. **Arthritis Res Ther**, v. 10, n. 3, p. R70, 2008.

QUIRYNEN, M. et al. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. **J Dent Res**, v. 74, n. 8, p. 1459-67, Aug 1995.

QUIRYNEN, M. et al. The role of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. Long-term clinical and microbiological observations. **J Clin Periodontol**, v. 27, n. 8, p. 578-89, Aug 2000.

RASTOGI, P. et al. Assessment of the effect of periodontal treatment in patients with coronary artery disease : A pilot survey. **J Cardiovasc Dis Res**, v. 3, n. 2, p. 124-7, Apr 2012.

RATHNAYAKE, N. et al. Saliva and plasma levels of cardiac-related biomarkers in post-myocardial infarction patients. **J Clin Periodontol**, v. 44, n. 7, p. 692-699, Jul 2017.

REDMAN, R. S. et al. Salivary and serum procalcitonin and C-reactive protein as biomarkers of periodontitis in United States veterans with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. **Biotech Histochem**, v. 91, n. 2, p. 77-85, 2016.

RIDKER, P. M. et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N Engl J Med**, v. 342, n. 12, p. 836-43, Mar 23 2000.

RIDKER, P. M. et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. **Circulation**, v. 98, n. 9, p. 839-44, Sep 1 1998.

RIDKER, P. M. et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. **Circulation**, v. 101, n. 15, p. 1767-72, Apr 18 2000.

ROBERTS, F. A.; DARVEAU, R. P. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. **Periodontol 2000**, v. 69, n. 1, p. 18-27, Oct 2015.

ROCA-MILLAN, E. et al. Periodontal treatment on patients with cardiovascular disease: Systematic review and meta-analysis. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 23, n. 6, p. e681-e690, Nov 1 2018.

ROMITO, G. A. et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America: LAOHA Consensus Meeting Report. **Braz Oral Res**, v. 34, n. suppl 1, p. e027, 2020.

RUDD, K. E. et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. **Lancet**, v. 395, n. 10219, p. 200-211, Jan 18 2020.

RUIZ, F. **Estatística básica aplicada à saúde**. Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1983. 128 p.

RYDEN, L. et al. Periodontitis Increases the Risk of a First Myocardial Infarction: A Report From the PAROKRANK Study. **Circulation**, v. 133, n. 6, p. 576-83, Feb 9 2016.

SANGHANI, N. N.; BM, S.; S, S. Health from the hive: propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis - a clinicomicrobiologic study. **J Clin Diagn Res**, v. 8, n. 9, p. ZC41-4, Sep 2014.

SANZ, M. et al. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. **J Clin Periodontol**, v. 47, n. 3, p. 268-288, Mar 2020.

SARTELLI, M. et al. Raising concerns about the Sepsis-3 definitions. **World J Emerg Surg**, v. 13, p. 6, 2018.

SCHENKEIN, H. A.; LOOS, B. G. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. **J Clin Periodontol**, v. 40 Suppl 14, p. S51-69, Apr 2013.

SCHMALZ, G. et al. High prevalence of periodontitis in blood donors and the possibility of questionnaire-based screening - results of a cross-sectional study. **Transfus Med**, v. 29, n. 6, p. 394-400, Dec 2019.

SCHULZ, K. F. et al. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. **BMJ**, v. 340, p. c332, Mar 23 2010.

SELVADURAI, K.; VARADHAN, K. B.; VENKATESH, P. M. Effects of non-surgical periodontal therapy on procalcitonin levels of gingival crevicular fluid and serum in subjects

with different periodontal conditions. **J Int Acad Periodontol**, v. 21, n. 3, p. 111-117, Jul 1 2019.

SINHA, M. et al. Procalcitonin as an adjunctive biomarker in sepsis. **Indian J Anaesth**, v. 55, n. 3, p. 266-70, May 2011.

SRAVYA, M. V. N. et al. Efficacy of an herbal antioxidant as an adjunct to nonsurgical periodontal therapy on procalcitonin levels in smokers with chronic periodontitis. **J Indian Soc Periodontol**, v. 23, n. 5, p. 430-435, Sep-Oct 2019.

SIMAO, A. F. et al. I cardiovascular prevention guideline of the Brazilian Society of Cardiology - executive summary. **Arq Bras Cardiol**, v. 102, n. 5, p. 420-31, May 2014.

SIMÃO, A. F. et al. I Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia - Resumo Executivo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, p. 420-431, 2014.

SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA**, v. 315, n. 8, p. 801-10, Feb 23 2016.

SOUZA, J. R. M. et al. Níveis séricos de interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18) e proteína C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnivelamento do ST em pacientes com diabetes tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 90, p. 94-99, 2008.

TAYLOR, B. A. et al. Full-mouth tooth extraction lowers systemic inflammatory and thrombotic markers of cardiovascular risk. **J Dent Res**, v. 85, n. 1, p. 74-8, Jan 2006.

TEGGERT, A.; DATTA, H.; ALI, Z. Biomarkers for Point-of-Care Diagnosis of Sepsis. **Micromachines (Basel)**, v. 11, n. 3, Mar 10 2020.

TELES, R.; WANG, C. Y. Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease. **Oral Dis**, v. 17, n. 5, p. 450-61, Jul 2011.

TEUGHEL, W. et al. One-stage, full-mouth disinfection: fiction or reality? **Periodontol** **2000**, v. 50, p. 39-51, 2009.

TIENSRIPOJAMARN, N. et al. Periodontitis is associated with cardiovascular diseases: A 13-year study. **J Clin Periodontol**, v. 48, n. 3, p. 348-356, Mar 2021.

TOMASI, C.; WENNSTROM, J. L. Full-mouth treatment vs. the conventional staged approach for periodontal infection control. **Periodontol** **2000**, v. 51, p. 45-62, 2009.

TONETTI, M. S. et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. **N Engl J Med**, v. 356, n. 9, p. 911-20, Mar 1 2007.

TONETTI, M. S.; GREENWELL, H.; KORNMAN, K. S. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. **J Clin Periodontol**, v. 45 Suppl 20, p. S149-S161, Jun 2018.

TOUYZ, R. M. Reactive oxygen species in vascular biology: role in arterial hypertension. **Expert Rev Cardiovasc Ther**, v. 1, n. 1, p. 91-106, May 2003.

TSCHAIKOWSKY, K. et al. Predictive value of procalcitonin, interleukin-6, and C-reactive protein for survival in postoperative patients with severe sepsis. **J Crit Care**, v. 26, n. 1, p. 54-64, Feb 2011.

USHIDA, Y. et al. Changes in serum interleukin-6, C-reactive protein and thrombomodulin levels under periodontal ultrasonic debridement. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. 11, p. 969-75, Nov 2008.

VAN DYKE, T. E. Shifting the paradigm from inhibitors of inflammation to resolvers of inflammation in periodontitis. **J Periodontol**, May 22 2020.

VAN DYKE, T. E. et al. Inflammation of the periodontium associates with risk of future cardiovascular events. **J Periodontol**, v. 92, n. 3, p. 348-358, Mar 2021.

VAN DYKE, T. E.; VAN WINKELHOFF, A. J. Infection and inflammatory mechanisms. **J Clin Periodontol**, v. 40 Suppl 14, p. S1-7, Apr 2013.

VEDIN, O. et al. Associations between tooth loss and prognostic biomarkers and the risk for cardiovascular events in patients with stable coronary heart disease. **Int J Cardiol**, v. 245, p. 271-276, Oct 15 2017.

VIJAYAN, A. L. et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. **J Intensive Care**, v. 5, p. 51, 2017.

VOLPATO, S. et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. **Circulation**, v. 103, n. 7, p. 947-53, Feb 20 2001.

VOORS, A. A. et al. C-terminal provasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. **Eur Heart J**, v. 30, n. 10, p. 1187-94, May 2009.

WANG, T. J. et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. **N Engl J Med**, v. 350, n. 7, p. 655-63, Feb 12 2004.

WANG, Y. et al. A randomized controlled trial of the effects of non-surgical periodontal therapy on cardiac function assessed by echocardiography in type 2 diabetic patients. **J Clin Periodontol**, v. 47, n. 6, p. 726-736, Jun 2020.

WIEDERMANN, F. J. et al. Migration of human monocytes in response to procalcitonin. **Crit Care Med**, v. 30, n. 5, p. 1112-7, May 2002.

WILCOXON, F. Individual Comparisons by Ranking Methods. **Biometrics Bulletin**, v. 1, n. 6, p. 80-83, 1945.

XU, S. et al. The association between periodontal disease and the risk of myocardial infarction: a pooled analysis of observational studies. **BMC Cardiovasc Disord**, v. 17, n. 1, p. 50, Feb 1 2017.

YOUSEFIMANESH, H. et al. Investigation of The Association between Salivary Procalcitonin Concentration and Chronic Periodontitis. **Cell J**, v. 17, n. 3, p. 559-63, Fall 2015.

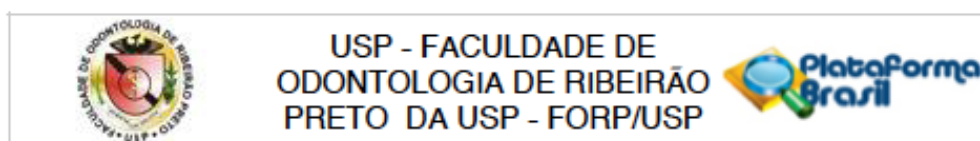
ZENG, X. T. et al. Periodontal disease and carotid atherosclerosis: A meta-analysis of 17,330 participants. **Int J Cardiol**, v. 203, p. 1044-51, Jan 15 2016.

ZHANG, X. et al. Elevation of vitamin D-binding protein levels in the plasma of patients with generalized aggressive periodontitis. **J Periodontal Res**, v. 48, n. 1, p. 74-9, Feb 2013.

ZIEBOLZ, D. et al. Periodontal findings and blood analysis of blood donors: a pilot study. **J Contemp Dent Pract**, v. 8, n. 5, p. 43-50, Jul 1 2007.

Anexos

ANEXO A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito Sistêmico da Terapia Periodontal nos Marcadores de Risco de Eventos Cardiovasculares Agudos

Pesquisador: Mario Taba Jr

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 56454016.6.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.993.287

Apresentação do Projeto:

Os pesquisadores adequaram o projeto as recomendações do CEP. Eles inseriram o nome da pesquisadora Catarina Martins Tahim na Plataforma Brasil e em todos os documentos.

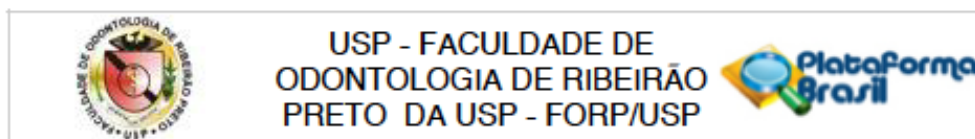
Objetivo da Pesquisa:

60 pacientes sistemicamente saudáveis mas com doença periodontal crônica (pelo menos, cinco dentes com profundidade de sondagem (PS) 5mm e perda de inserção 3mm) terão os níveis plasmáticos de biomarcadores associados ao risco de eventos cardiovasculares agudos avaliados em vários momentos: i) durante o atendimento (tempo 0 hs), ii) imediatamente após (tempo 1 h), e iii) depois de horas (tempo 24 hs) e iv) dias após o tratamento periodontal (tempo 48 hs) realizado em uma única (Grupo 1-N=30) ou em múltiplas sessões (Grupo 2-n=30). Serão utilizados kits de ELISA de alta sensibilidade com precisão de picogramas/mL para os seguintes biomarcadores: IL-6, PCR ultra sensível, Troponina I, Troponina T, CK, CK-MB, BNP e NT-proBNP. Serão seguidos os protocolos de execução de cada kit de acordo com o fabricante.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço: Avenida do Café s/n°
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-4102 **E-mail:** cep@forp.usp.br



Continuação do Parecer: 1.993.267

Os riscos são pertinentes ao tratamento periodontal com a terapia básica de raspagem e alisamento periodontal em pacientes em pacientes sistemicamente saudáveis que é realizado normalmente nas clínicas da Faculdade. Neste estudo soma-se a coleta de sangue em 4 tempos que será realizada por uma profissional habilitada seguindo os padrões de biossegurança.

Benefícios:

Os pacientes serão selecionados a partir da livre demanda da Clínica de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto e receberão todo o tratamento periodontal até a completa remissão da doença com acompanhamento a cada 6 meses. Caso necessário, o paciente será encaminhado a outros setores da Clínica para tratamento das demais necessidades odontológicas dos pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores adequaram todas as solicitações do CEP da FORP/USP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados. O projeto está apresentado de forma correta, cumpre todas as normativas estabelecidas pelo CEP da FORP/USP e CONEP. Pesquisa relevante para a área da odontologia, apresenta referências bibliográficas atualizadas e os pesquisadores são plenamente habilitados para o desenvolvimento do projeto em tela.

Recomendações:

Aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_714818.pdf	10/02/2017 15:28:33		Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	10/02/2017 15:28:16	Mario Taba Jr	Aceito
Outros	Declaracao_Participacao_Paciente2.doc	10/02/2017 15:25:37	Mario Taba Jr	Aceito
TCLE / Termos de	TCLEPerioCardio2017.pdf	10/02/2017	Mario Taba Jr	Aceito

Endereço: Avenida do Café s/nº
 Bairro: Monte Alegre CEP: 14.040-904
 UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
 Telefone: (16)3315-0493 Fax: (16)3315-4102 E-mail: cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 1.993.287

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPerioCardio2017.pdf	15:25:07	Mario Taba Jr	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPerioCardio0217.docx	09/02/2017 10:36:42	Mario Taba Jr	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutInfraestruturaMarcadores1.pdf	07/02/2017 15:20:55	Mario Taba Jr	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutInfraestruturaMarcadores.pdf	07/02/2017 15:20:38	Mario Taba Jr	Aceito
Cronograma	CronogramaCardio.docx	18/01/2017 23:10:06	Mario Taba Jr	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 31 de Março de 2017

Assinado por:
Simone Cecilio Hallak Regalo
(Coordenador)

Endereço: Avenida do Café s/nº
Bairro: Monte Alegre CEP: 14.040-904
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 Fax: (16)3315-4102 E-mail: cep@forp.usp.br

ANEXO B- COMPROVANTE DE FINANCIAMENTO DO PROJETO DE PESQUISA.

03/04/2018

SAGe - Sistema de Apoio a Gestão



VISUALIZAÇÃO DE DESPACHO

Processo 2017/20770-6
Linha de Fomento Programas Regulares / Auxílios a Pesquisa / Projeto de Pesquisa / Projeto de Pesquisa - Regular - Fluxo Contínuo
Situação Em Contratação
Vigência 01/05/2018 a 30/04/2020
Beneficiário Mario Taba Junior
Responsável Mario Taba Junior
Vínculo Institucional do Processo Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/FORP/USP

Folha de Despacho para Reconsideração 001 - Projeto de Pesquisa - Regular

Resultado

Concedido

Datas do Despacho

Emitido em : 03/04/2018

Orçamento Consolidado


Benefícios	Solicitado		Despacho	
	Valor (R\$)	Valor (US\$)	Valor (R\$)	Valor (US\$)
Capital				
Material Permanente	8.945,70	0,00	8.945,70	0,00
Custeio				
Despesas de Transporte	0,00	0,00	0,00	0,00
Diárias	0,00	0,00	0,00	0,00
Material de Consumo	4.233,56	21.644,00	4.233,56	19.644,00
Serviços de Terceiros	2.800,00	0,00	2.800,00	0,00
Reserva Técnica - Benefícios Complementares	16.000,00	0,00	16.000,00	0,00
Reserva Técnica - Custo de Infraestrutura Direta do Projeto	13.759,98	0,00	12.709,98	0,00
Provisão para Importação	0,00	3.246,60	0,00	2.946,60
Total	45.739,24	24.890,60	44.689,24	22.590,60

Quotas de Bolsa

Modalidade / Categoria	Solicitado			Quantidade	Modalidade / Categoria	Despacho		
	Carga Horária	Duração (Meses)	Quantidade			Carga Horária	Duração (Meses)	Quantidade
Nenhuma quota solicitada.								

ANEXO C- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO ARTIGO 1

ScholarOne Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/bor-scielo> **Brazilian Oral Research**[# Home](#)[/ Author](#)

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to
Brazilian Oral Research

Manuscript ID
BOR-2021-0778

Title
Sepsis-related biomarkers in the first 48 hours after nonsurgical periodontal therapy

Authors
Tahim, Catarina
Tavares, Milla
Figueredo da Costa, Karine
Furlaneto, Flavia
Novaes Junior, Arthur
Taba, Mario

Date Submitted
24-Aug-2022

[Author Dashboard](#)

ANEXO D- ARTIGO 1 SUBMETIDO AO PERIÓDICO “*Brazilian Oral Research*” (Qualis Capes A2).

Title Page

Thematic area: Periodontics

Title: Sepsis-related biomarkers in the first 48 hours after nonsurgical periodontal therapy

Authors

Catarina Martins Tahim *, DDS, MS

c.tahim@gmail.com

Orcid: 0000-0003-4653-6989

Milla Sprone Tavares*, MS

milla@forp.usp.br

Orcid: 0000-0002-6757-4995

Karine Figueredo da Costa*, DDS, MS

karinefigueredo@usp.br

Orcid: 0000-0002-4959-6285

Flávia Furlaneto Messoro*, DDS, PhD

flafurlaneto@usp.br

Orcid: 0000-0002-8072-3983

Arthur Belém Novaes Jr. *, DDS, PhD

novaesjr@forp.usp.br

Orcid: 0000-0002-1982-6756

Mario Taba Jr. *, DDS, PhD

mtaba@usp.br

Orcid: 0000-0002-7098-5090

* Department of Oral & Maxillofacial Surgery and Periodontology, Ribeirão Preto Dental School, University of São Paulo – USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

Abstract:

Some studies have been relating periodontal disease to sepsis-related biomarkers. However, the short-term effects of periodontal treatment on these biomarkers have not been fully elucidated. Thus, this study aimed to evaluate the short-term acute phase response after nonsurgical periodontal treatment (NSPT) by monitoring the sepsis-related biomarkers. Forty-one periodontal patients were enrolled in the study. Periodontal parameters were registered at baseline and after 45 days. Serum samples were drawn before NSPT (baseline) and 24 (T2) and 48 hours (T3) after NSPT for C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) analysis. There was an increase in CRP at T2 and T3 ($p < 0.05$). PCT increased from T1 to T2, although concentrations over time showed no significant differences ($p > 0.05$). Data could not demonstrate a direct association between PCT values and clinical parameters ($p > 0.05$). CRP and PCT increased after scaling and root planing as part of the acute phase response and tissue injury. Although consistent with bacteremia, inflammation, and tissue damage, data could not demonstrate a direct association between PCT values and clinical parameters ($p > 0.05$). Systemically healthy patients are considered safe concerning the risk of sepsis. However, otherwise compromised patients must be aware of the potential CRP and PCT increased levels.

Descriptors: periodontitis, periodontal debridement, sepsis.

Introduction

Periodontitis is a chronic inflammatory disease biofilm-induced initiated by specific pathogens combinations that modulate the host response causing a state of dysbiosis. Bacteria and their products progressively affect the periodontium integrity resulting in progressive destruction, which triggers a local and systemic inflammatory response ¹.

Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by the host's unregulated response to infection. Initially manifest itself by changes in body temperature, tachycardia, tachypnea, or the number of leukocytes. It usually occurs due to an external stimulus such as bacterial endotoxins causing clinical alteration diagnosed by the presence of acute infections and dysfunctions in vital organs ².

In Brazil, there is a high incidence, prevalence, and death rate related to sepsis in Intensive Care Units (ICUs), with over 200.000 deaths per year ³. Besides, data shows that around 35% of sepsis registered cases are admitted to the hospital via urgency/ emergency

services³, indicating that a substantial number of patients are hospitalized already with ongoing systemic inflammation and infection. From a global perspective, the most recent survey demonstrated that in 2017 about 48.9 million sepsis cases were registered, responsible for 19.7% of all global deaths⁴.

During sepsis, monocytic cells activate, which leads to procalcitonin (PCT) release, also liberated by the thyroid gland and the neuroendocrine cells in the lungs and the lungs intestines in response to sepsis-induced tissue damage and necrosis⁵. This protein is an inactive precursor to calcitonin, a hormone secreted by the thyroid that participates in calcium metabolism⁶. The presence of chronic infections and systemic inflammation act as an additional stimulus⁵, and it has been evaluated in serum⁷⁻¹⁴, saliva^{7, 10, 11, 14-16}, and gingival crevicular fluid^{17, 18} of patients with periodontal diseases.

Persistent bacteremia and endotoxemias are characteristic of periodontal infections. Frequent exposure of the vasculature to these pathogens results in the activation of endothelial inflammation and functional impairment¹⁹. Clinical studies demonstrate that bacteremia and tissue damage caused by periodontal Treatment (PT) increases systemic levels of IL-6, TNF- α , and c-reactive protein (CRP)²⁰⁻²². Bloodstream invasion of bacteria and its metabolism might become critical since they can be carried to distant organs, potentially altering an already established chronic disease directly and amplifying the systemic inflammatory response²³. In sepsis, as in periodontitis, the intensity of the inflammatory response might lead to changes in the expression of virulence factors and the microbiome. Therefore, controlling exacerbated inflammation would favor the management of infection and dysbiosis. As the conditions mentioned above are highly prevalent in the population, a better understanding of the possible mechanisms involving periodontal diseases, their Treatment, and the development of exacerbated inflammatory response is necessary, especially in hospitalized patients or those at risk.

As periodontitis is a high prevalence condition in the adult population, often associated with morbidities, it can be inferred that patients who eventually are admitted to hospital have some active infectious focus in the oral cavity, such as periodontal disease, a significant health issue to be considered. Previous studies have shown that after NSPT, there is an acute phase response resulting in a transient increase in some proteins, such as CRP^{20, 24, 25}. Once they have similar biological mechanisms of induction, the hypothesis was raised that this exacerbated and transient inflammatory reaction could increase the risk of systemic infection. In this context, it

is reasonable to evaluate the impact of the systemic response to PT on the risk of sepsis in the hospital and as a late consequence of tissue trauma induced by the PT. Thus, the present study aimed to evaluate the acute phase response of NSPT in sepsis-related biomarkers (PCT and CRP).

Materials and methods

Study protocol and patients

The study's research protocol was approved by the Human Research Ethics Committee of Ribeirão Preto Dental School (CAAE 56454016.6.0000.5419). The study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki (Clinical Trial Registry: ensaiosclinicos.gov.br; RBR-66tr7h), and informed consent was obtained from all subjects before the trial. A total of 41 individuals seeking dental Treatment at Ribeirão Preto Dental School from April 2017 to December 2019 were enrolled according to the following inclusion criteria: a minimum of 14 natural teeth, at least four pockets with probing depths (PD) ≥ 4 mm, and six sites with clinical attachment loss (CAL) > 3 mm to be considered patients with periodontitis²⁶. According to the current Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions²⁷, the patients included were diagnosed with generalized periodontitis stages II or III. Exclusion criteria were as follows: patients with chronic inflammation or immunological conditions, history of smoking, pregnancy, lactation, and use of medications such as anti-inflammatories, antibiotics, immunosuppressants, or anticoagulants in the last six months or continuously. Patients who dropped out of the study or could not attend scheduled appointments were excluded from the study but continued to receive periodontal treatment.

Interventions and periodontal examinations

All selected patients received oral hygiene instructions. Before the beginning of PT, all patients rinsed 0.12% chlorhexidine for one minute. The treatment protocol was performed with ultrasound (Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brazil), manual Gracey curettes (Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, EUA), and no adjuvant medications. NSPT was performed by one experienced periodontist (CMT), and patients were evaluated at baseline and after 45 days. Those without clinical signs of disease activity went into support and maintenance therapy.

A calibrated examiner (KFC) performed the periodontal examination at baseline and after 45 days. It evaluated plaque index (PI, %), measured in a dichotomous form, four sites per tooth. Bleeding on probing (BOP, %), PD (mm), and CAL (mm) were evaluated at six sites per

tooth with a manual periodontal probe (PCP UNC 15, Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, EUA). A radiographic examination of all teeth was performed to diagnose and confirm the alveolar bone loss at baseline.

Measurement of circulating biomarkers

Blood samples were collected before interventions (baseline), at 24- and 48- hours after the NSPT was initiated. About 10 mL of peripheral blood was collected from each patient by vacuum in tubes containing a clot activator. The samples were centrifuged at room temperature at 3,000 rotations per minute for 8 min. Serum was frozen at -80°C in labeled tubes for later quantitation of proteins. PCT and CRP levels were measured by ELISA (EHPCT and KHA0031 ELISA kits, Thermo Fischer Scientific, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria) and a blinded examiner (MST) performed all the laboratory analyses.

Statistical analysis

The data were analyzed using software (Statistical Package for the Social Sciences version 22 (IBM SPSS Statistics 22, IBM Corporation, Somers, NY, USA), and presented as mean \pm standard deviation and median (interquartile interval) to further compare with other studies. For all tests, the statistical significance level was considered at 95% ($p < 0.05$). Intra-group analyses for clinical parameters were made using *t-tests*. The protein levels presented asymmetric distributions, and non-parametric tests were applied (Wilcoxon signed-rank test and Mann–Whitney test). Finally, the Pearson correlation test was performed to assess whether the initial concentrations of PCT were related to the periodontal clinical parameters at baseline.

Results

Among the 41 patients enrolled in the study, two missed at least one of the follow-up visits. At the end of the acute phase of periodontal therapy, 39 patients completed the study protocol and were analyzed. All sample collections and clinical data procedures run uneventfully. Still, one patient reported a fever episode (37.8°C) in the first 24 hours, in addition to the mild sensitivity reported by all patients. No other adverse events were related.

The demographic baseline sample characteristics of the subjects are described in Table 1. Periodontal clinical parameters are shown in Table 2. There was a reduction in PI, BOP, PD, and CAL ($p < 0.05$) at 45 days (Table 2). When evaluating teeth with PS and $\text{CAL} \geq 5\text{mm}$, the

data also showed a reduction in the percentage of teeth with PS \geq 5mm and a gain of clinical attachment ($p < 0.05$).

There was a significantly higher concentration of CRP (Table 3) when the baseline values (T1) were compared to T2 (7.30 ± 6.69 vs. 10.32 ± 8.10 , $p = 0.005$) and T3 (6.31 ± 6.58 vs. 10.65 ± 8.79 , $p = 0.003$). PCT increased from T1 to T2 (69.22 ± 176.66 vs. 71.31 ± 166.92); nevertheless, concentrations over time showed no significant differences ($p > 0.05$) (Table 3).

According to a classification strategy for antibiotic therapy prescription based on PCT systemic levels proposed ²⁸, none of the subjects presented PCT concentrations consistent with either severe bacterial sepsis or acute systemic inflammation over time (Table 4). For all experimental time points, the PCT concentrations were compatible with local infection (T1: 61.54; T2: 53.85 and T3: 58.97), or it was not detected (T1: 35.90; T2: 41.03 and T3: 35.90).

The Pearson's Correlation Test (Table 6) between baseline periodontal parameters and biomarkers concentrations showed a significant correlation for CRP and BOP ($p < 0.05$), and PD ($p < 0.05$). Data did not show associations between PCT values and clinical parameters ($p > 0.05$).

Discussion

This trial aimed to evaluate the acute phase response of NSPT in patients with periodontitis by monitoring sepsis-related biomarkers. The data from the present study suggest that NSPT in patients with periodontitis and without systemic diseases does not seem to induce a systemic burst of PCT enough to place them at a risk range for developing sepsis.

Pioneer studies have already reported an acute phase response after NSPT with a transitional increase in biomarkers such as CRP ^{24, 25}, also used for a valid diagnosis of sepsis in addition to other biomarkers ⁶. Also, bacteremia and tissue injury resulting from periodontal Treatment could act as additional stimuli for releasing acute-phase proteins ²³. PCT can also be released in response to tissue trauma and bacteremia ^{5, 6}. Thus, as previous studies have described low concentrations of PCT in healthy subjects ^{10, 11, 13}, the selection of patients without risk factors was extremely rigorous to assess whether periodontal Treatment associated with an induced transient increase in CRP could raise systemic levels of PCT to levels known to be at risk for systemic infection. PCT has a relative increase 2-4 hours after the stimulus and

a half-life of 22-26 hours⁶. This study advocated the experimental time of 24 and 48 hours to evaluate early acute and late response to stimuli, respectively.

All clinical parameters improved significantly after the periodontal Treatment; only one patient reported having a fever episode ($>37.8^{\circ}\text{C}$) in the first 24 hours. As previously described, the elevation of body temperature is a joint adverse event after full-mouth debridement (FMD)²⁴.

Studies have shown that NSPT induces higher systemic levels of CRP in the first 24 hours^{24, 25, 29, 30}, with the FMD modality showing a higher level when compared to quadrant debridement (QD)^{24, 30}. Our data is consistent with the literature since the CRP systemic levels increased over experimental times, with a greater increase being detected in the first 24 hours after NSPT. This could be explained by the continuous release of bacterial products and inflammatory mediators due to tissue trauma and bacteremia, which induce the release of CRP in the liver^{23, 31}.

Baseline concentrations of PCT varied widely among individuals, probably due to the high frequency of sample levels below the detection limit of the kit used for biomarkers analysis. The possible explanations might be that the sensitivity in the selected test was insufficient to detect lower concentrations and the sample profile, composed in general of patients without severe systemic conditions.

This transient bacteremia monitored through the concentration of procalcitonin in serum and saliva was recently evaluated immediately and one-hour post-NSPT¹⁴. The authors observed that serum PCT post-NSPT increased immediately while at the end of two weeks, the PCT levels were decreased, proposing that serum levels of PCT reflect the microbial load of the subjects¹⁴. The data from the present study, although they also demonstrate an increase in the concentration of PCT in the first 24 hours, this increase was not relevant (Tables 3). We can assume this could be explained because in healthy subjects, as the bacteria enter the bloodstream, they are readily removed by phagocytic cells, thus ceasing the stimulus to the release of PCT. Additionally, the difference in sample size between the studies and the enzyme immunoassays of different manufacturers and sensitivities could contribute to this difference.

As previously evidenced in patients with rheumatoid arthritis, the levels of PCT and CRP in subjects with moderate/severe periodontitis were higher than in those without periodontitis and even higher among those with diabetes¹⁰. Thus, confirming that other systemic diseases may contribute to the elevation of PCT⁴. Another study found that patients with chronic periodontitis (CP) and chronic migraine (CM) had higher serum PCT levels than those without CM and CP, but with no difference between groups for hs-CRP. Multiple linear

regression also showed that CP was associated with higher levels of PCT in patients with CM⁹. Serum and saliva concentrations of PCT from patients with periodontitis and diabetes and serum-PCT values for the periodontitis/diabetes group were significantly higher than those in the control group. As in the present study, serum-PCT was not correlated with periodontal parameters at baseline⁷.

A study found a strong correlation between periodontal parameters and serum PCT levels in patients with periodontitis and that periodontal healthy subjects have lower PCT serum concentrations than those with periodontitis¹¹. Also, patients with aggressive periodontitis had higher PCT levels on saliva¹⁵ and serum¹³ than healthy subjects, consistent with local infection²⁸. Results differ from the present study since no correlations between periodontal parameters, and PCT values were found (Table 5), and even patients with periodontitis had undetectable values.

In samples from healthy blood donors, 41.7% had periodontitis, and in 67.5% of them, the presence of PCT was not detected, and in the others, this value did not exceed 0.4 ng / mL³². As in the present study, similar results regarding the prevalence of periodontitis and the low concentration of PCT were found even when considering the most severe forms of the disease^{32, 33}.

Chronic inflammation characterized by a systemic elevation of acute-phase proteins such as CRP is an important event that may link periodontal diseases and systemic inflammation like sepsis. The literature consistently demonstrates that patients with periodontitis have higher CRP concentrations than healthy subjects, irrespective of the laboratory assessment or treatment modality adopted^{20, 24, 30, 34, 35}. The inflammation triggered by the dysbiotic dental biofilm is well known to be enriched with inflammatory mediators such as IL-1, IL-6, CRP, and fibrinogen^{35, 36}. The dissemination of these mediators, in addition to periodontal bacteria and its products in the bloodstream, triggers a systemic inflammatory response³⁰. The inflammatory reaction can also be caused by saliva swallowing and gut colonization^{1, 30}. Thus, CRP production is induced by inflammatory mediators locally as well as by stimulating hepatocytes³⁷.

There might be two different pathways through which CRP could be related to higher serum PCT levels. One is that periodontal pockets provide a large, ulcerated surface, becoming easier for periodontal bacteria and inflammatory mediators to reach the systemic circulation⁹ and the other would be the regular liberation in response to bacteremia by thyroid cells^{6, 38}.

Regarding periodontal inflammation, it is worth mentioning that the NSPT is crucial for resolving the inflammatory process and reestablishing periodontal health regardless of the

selected clinical approach³⁹. With the resolution of inflammation, the source of nutrients resulting from collagen degradation is extinguished, contributing to the reversal of the dysbiosis state⁴⁰. A plausible alternative would be to assess whether the association of Specialized pro-resolving Mediators (SPMs) with NSPT, especially in patients with chronic systemic inflammation, such as diabetics and obese, could reduce the acute response to periodontal Treatment, placing them at a lower risk of inflammation and infection by reducing the inflammatory hyperresponsiveness to tissue damage and bacteremia.

Clinical studies evaluating PCT serum concentrations are distinct in some points, such as the diagnosis criteria for periodontitis, sample profile, and analysis method of the samples. Therefore, the results of the present study could be relevant for the management of future interventions on patients with a higher risk of sepsis than those immunocompromised or in ICUs. Also, it may provide insights into the potential necessity of adjunctive periodontal host modulation therapy for susceptible patients.

The authors acknowledge the potential limitations of this study. Although sufficient for reaching adequate power, the sample size can be considered undersized for a clinical trial. Also, we took extra care in this study design to not expose a susceptible individual to unknown short-term risks. Therefore, this data needs to be further validated with a larger sample study and, perhaps, the inclusion of patients with systemic conditions and presumable higher risk. When asked about adverse events, patients did not relate to increased body temperatures, except for one already mentioned. The baseline and the recommended experimental times measures of body temperature would have been of great value. Finally, including an experimental group without periodontal disease for baseline assessments would complement the information regarding PCT concentrations in healthy subjects.

Conclusion

After scaling and root planing, there was an important increase in CRP at T2 and T3. Although not significant, there was also an increase in PCT as part of the acute phase response. The sepsis biomarker elevation may be an important risk indicator for susceptible individuals to systemic inflammation and infection in the first 48 hours but did not expose systemically healthy patients to a range of significant risks. Further studies, including immunocompromised patients associated with systemic disease and periodontitis, might be more enlightening about the increased PCT levels after periodontal therapy to assure secure interventions with low risks.

Acknowledgement and Conflict of Interest: This study was financed by the São Paulo Research Foundation- FAPESP, grant number 2017/20770-6 to MTJ, in cooperation with the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. The authors have stated that there are no conflicts of interest in connection with this article. The authors are deeply grateful to the clinical and administrative staff members of Ribeirão Preto Dental School for their support during the trial.

References

1. Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat Rev Immunol.* 2021;21(7):426-40.
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.
3. Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, Ferreira EM, Angotti Carrara FS, Sousa JL, et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(11):1180-9.
4. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 2020;395(10219):200-11.
5. Meisner M. Update on procalcitonin measurements. *Ann Lab Med.* 2014;34(4):263-73.
6. Dolin HH, Papadimos TJ, Stepkowski S, Chen X, Pan ZK. A Novel Combination of Biomarkers to Herald the Onset of Sepsis Prior to the Manifestation of Symptoms. *Shock.* 2018;49(4):364-70.
7. Bassim CW, Redman RS, DeNucci DJ, Becker KL, Nylen ES. Salivary procalcitonin and periodontitis in diabetes. *J Dent Res.* 2008;87(7):630-4.
8. Giannopoulou C, Cionca N, Almaghlouth A, Cancela J, Courvoisier DS, Mombelli A. Systemic Biomarkers in 2-Phase Antibiotic Periodontal Treatment: A Randomized Clinical Trial. *J Dent Res.* 2016;95(3):349-55.
9. Leira Y, Ameijeira P, Dominguez C, Leira R, Blanco J. High serum procalcitonin levels in patients with periodontitis and chronic migraine. *J Periodontol.* 2018;89(9):1069-74.
10. Redman RS, Kerr GS, Payne JB, Mikuls TR, Huang J, Sayles HR, et al. Salivary and serum procalcitonin and C-reactive protein as biomarkers of periodontitis in United States veterans with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Biotech Histochem.* 2016;91(2):77-85.

11. Selvadurai K, Varadhan KB, Venkatesh PM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on procalcitonin levels of gingival crevicular fluid and serum in subjects with different periodontal conditions. *J Int Acad Periodontol*. 2019;21(3):111-7.
12. Sravya MVN, Koduganti RR, Panthula VR, Surya PJ, Gireddy H, Dasari R, et al. Efficacy of an herbal antioxidant as an adjunct to nonsurgical periodontal therapy on procalcitonin levels in smokers with chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*. 2019;23(5):430-5.
13. Zhang X, Meng H, Sun X, Xu L, Zhang L, Shi D, et al. Elevation of vitamin D-binding protein levels in the plasma of patients with generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res*. 2013;48(1):74-9.
14. Mohan R, Srirangarajan, Rao RJ, Prabhu S, Rudresh V. Utility of procalcitonin as an early diagnostic marker of bacteremia in individuals with periodontitis Stage II and III. *J Periodontol*. 2021;92(7):968-74.
15. Hendek MK, Erdemir EO, Kisa U. Evaluation of salivary procalcitonin levels in different periodontal diseases. *J Periodontol*. 2015;86(6):820-6.
16. Yousefimanesh H, Robati M, Malekzadeh H, Jahangirnezhad M, Ghafourian Boroujerdnia M, Azadi K. Investigation of The Association between Salivary Procalcitonin Concentration and Chronic Periodontitis. *Cell J*. 2015;17(3):559-63.
17. Giannopoulou C, Cappuyns I, Cancela J, Cionca N, Mombelli A. Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. *J Periodontol*. 2012;83(8):1018-27.
18. Muller Campanile VS, Giannopoulou C, Campanile G, Cancela JA, Mombelli A. Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. *Lasers Med Sci*. 2015;30(1):27-34.
19. Skilton MR, Maple-Brown LJ, Kapellas K, Celermajer DS, Bartold M, Brown A, et al. The effect of a periodontal intervention on cardiovascular risk markers in Indigenous Australians with periodontal disease: the PerioCardio study. *BMC Public Health*. 2011;11:729.
20. Ide M, Jagdev D, Coward PY, Crook M, Barclay GR, Wilson RF. The short-term effects of Treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. *J Periodontol*. 2004;75(3):420-8.
21. Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MC, de Souza AM, Faccioli LH, et al. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol*. 2009;80(4):594-602.

22. Rastogi P, Singhal R, Sethi A, Agarwal A, Singh VK, Sethi R. Assessment of the effect of periodontal Treatment in patients with coronary artery disease : A pilot survey. *J Cardiovasc Dis Res.* 2012;3(2):124-7.
23. Konkel JE, O'Boyle C, Krishnan S. Distal Consequences of Oral Inflammation. *Front Immunol.* 2019;10:1403.
24. Graziani F, Cei S, Orlandi M, Gennai S, Gabriele M, Filice N, et al. Acute-phase response following full-mouth versus quadrant nonsurgical periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2015;42(9):843-52.
25. Graziani F, Cei S, Tonetti M, Paolantonio M, Serio R, Sammartino G, et al. Systemic inflammation following nonsurgical and surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2010;37(9):848-54.
26. Lopez NJ, Gamonal JA, Martinez B. Repeated metronidazole and amoxicillin treatment of periodontitis. A follow-up study. *J Periodontol.* 2000;71(1):79-89.
27. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S149-S61.
28. Vijayan AL, Vanimaya, Ravindran S, Saikant R, Lakshmi S, Kartik R, et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *J Intensive Care.* 2017;5:51.
29. Morozumi T, Yashima A, Gomi K, Ujiie Y, Izumi Y, Akizuki T, et al. Increased systemic levels of inflammatory mediators following one-stage full-mouth scaling and root planing. *J Periodontal Res.* 2018;53(4):536-44.
30. Machado V, Botelho J, Escalda C, Hussain SB, Luthra S, Mascarenhas P, et al. Serum C-Reactive Protein and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol.* 2021;12:706432.
31. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(1):30-44.
32. Ziebolz D, Jager GC, Hornecker E, Mausberg RF. Periodontal findings and blood analysis of blood donors: a pilot study. *J Contemp Dent Pract.* 2007;8(5):43-50.
33. Schmalz G, Hubscher AE, Angermann H, Schmidt J, Schmickler J, Legler TJ, et al. High prevalence of periodontitis in blood donors and the possibility of questionnaire-based screening - results of a cross-sectional study. *Transfus Med.* 2019;29(6):394-400.
34. Almaghlouth AA, Cionca N, Cancela JA, Decaillet F, Courvoisier DS, Giannopoulou C, et al. Effect of periodontal Treatment on peak serum levels of inflammatory markers. *Clin Oral Investig.* 2014;18(9):2113-21.

35. D'Aiuto F, Orlandi M, Gunsolley JC. Evidence that periodontal Treatment improves biomarkers and CVD outcomes. *J Clin Periodontol*. 2013;40 Suppl 14:S85-105.
36. Bokhari SA, Khan AA, Butt AK, Azhar M, Hanif M, Izhar M, et al. Nonsurgical periodontal therapy reduces coronary heart disease risk markers: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2012;39(11):1065-74.
37. Ebersole JL, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*. 2000;23:19-49.
38. Paudel R, Dogra P, Montgomery-Yates AA, Coz Yataco A. Procalcitonin: A promising tool or just another overhyped test? *Int J Med Sci*. 2020;17(3):332-7.
39. Tomasi C, Wennstrom JL. Full-mouth treatment vs. the conventional staged approach for periodontal infection control. *Periodontol 2000*. 2009;51:45-62.
40. Van Dyke TE. Shifting the paradigm from inhibitors of inflammation to resolvers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2020.

Tables

Table 1. Baseline sample characteristics.

Variable	n= 41
<i>Age</i>	43.76 ± 10.28
<i>Gender</i>	
Male	16 (39.02)
Female	25 (60.98)
<i>Number of teeth</i>	26.41 ± 3.32

Notes: Variables expressed as mean ± standard deviation (SD) or n (%).

Table 2. Periodontal parameters over time (n=41)

	Baseline	45 days	<i>p</i>-value
Plaque index (%)	68.93 ± 25.86	30.63 ± 14.67	0.000*
Bleeding on probing (%)	51.80 ± 23.31	24.48 ± 9.64	0.000*
Probing depth (mm)	3.52 ± 0.79	3.01 ± 0.65	0.000*
Probing depth ≥ 5 mm (percentage of teeth)	38.61 ± 27.79	20.95 ± 20.07	0.000*
Clinical attachment loss (mm)	4.06 ± 1.06	3.64 ± 0.92	0.000*
Clinical attachment loss ≥ 5 mm (number of teeth)	51.02 ± 32.95	39.76 ± 28.23	0.000*

Notes: Intra-group comparison. *P*-values from *t*-tests. **p*-value < 0.05.

Variables are expressed as mean ± standard deviation. Values for *Probing depth* ≥ 5 mm are expressed as a percentage of inflamed teeth ± standard deviation and for *Clinical attachment loss* ≥ 5 mm percentage of teeth ± standard deviation.

Table 3. Serum levels of PCT and CRP (n=39)

	T1	T2	T3	p^a	p^b	p^c
PCT	69.22 ± 176.66 1.79 (0- 17.47)	71.31 ± 166.92 1.46 (0- 4.76)	47.90 ± 131.31 1.12 (0- 4.15)	0.694	0.260	0.221
CRP	7.30 ± 6.69 4.13 (1.88- 10.28)	10.32 ± 8.10 7.93 (3.30- 17.01)	10.65 ± 8.79 8.39 (2.99- 15.33)	0.005*	0.394	0.003*

Notes: Values presented in the following order: mean ± standard deviation/ median (interquartile interval). p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): values from the intra-group comparison (Wilcoxon test). *p-value < 0.05. T1: baseline, before NSPT; T2: 24 hours after the NSPT was initiated; T3: 48 hours after the NSPT was initiated.

Table 4. Evaluation of procalcitonin (PCT) concentrations according to its risk of sepsis.

	N= 39		
	T1	T2	T3
Severe Bacterial Sepsis PCT >10000 pg/ml	0	0	0
Severe systemic inflammatory response PCT 2000 to 10000 pg/ml	0	0	0
Probable systemic infection PCT 500 to 2000 pg/ml	2.56	5.13	5.13
Local bacterial infection PCT <500 pg/ml	61.54	53.85	58.97
Not detected	35.90	41.03	35.90

Notes: Values expressed as n (%).

T1: baseline, before NSPT; T2: 24 hours after the NSPT was initiated; T3: 48 hours after the NSPT was initiated.

Table 5. Correlations of baseline PCT and CRP levels with clinical periodontal parameters.

	Clinical Periodontal Parameters							
	PI		BOP		PD		CAL	
	R	p	R	p	R	p	R	p
PCT (pg/ml)	-0.074	0.655	-0.227	0.165	-0.95	0.566	-0.44	0.788
CRP (mg/L)	0,294	0.070	0.321	0.047*	0.321	0.046*	0.287	0.077

Notes: *Correlation is significant at the 0.05 level. * p-value < 0.05.

R: Pearson's correlation coefficient

ANEXO E- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO ARTIGO 2

Gmail - Submission Confirmation for PONE-D-22-23831 - [EMID:53e... <https://mail.google.com/mail/u/0/?ik=2cebe3495d&view=pt&search=a..>



Catarina Tahim <c.tahim@gmail.com>

Submission Confirmation for PONE-D-22-23831 - [EMID:53e344e68952f700]

1 mensagem

PLOS ONE <em@editorialmanager.com>
Responder a: PLOS ONE <plosone@plos.org>
Para: Catarina Martins Tahim <c.tahim@gmail.com>

25 de agosto de 2022 21:09

PONE-D-22-23831
Acute phase response of cardiovascular risk biomarkers following nonsurgical periodontal treatment
PLOS ONE

Dear Dr. Tahim,

Thank you for submitting your manuscript entitled 'Acute phase response of cardiovascular risk biomarkers following nonsurgical periodontal treatment' to PLOS ONE. Your assigned manuscript number is PONE-D-22-23831.

We will now begin processing your manuscript and may contact you if we require any further information. You will receive an update once your manuscript passes our in-house technical check; you can also check the status of your manuscript by logging into your account at <https://www.editorialmanager.com/pone/>.

If during submission you selected the option for your manuscript to be posted on the bioRxiv preprint server (<http://biorxiv.org>), we will be assessing the manuscript for suitability shortly. If suitable, your preprint will be made publicly available on bioRxiv and you will receive an email confirmation from them when it has posted. Please check your response to this question and email us as soon as possible at plosone@plos.org if it has been answered incorrectly. Further information about our partnership with bioRxiv to facilitate the rapid availability of life sciences research is available at <http://journals.plos.org/plosone/s/preprints>.

If you have any inquiries or other comments regarding this manuscript please contact plosone@plos.org.

Thank you for your support of PLOS ONE.

Kind regards,
PLOS ONE

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/pone/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

ANEXO F- ARTIGO 2 SUBMETIDO AO PERIÓDICO *PLOS ONE* (QUALIS CAPES A1)

Acute phase response of cardiovascular risk biomarkers following nonsurgical periodontal treatment

Catarina Martins Tahim^{1¶*}, Milla Sprone Tavares^{1&}, Daniela Bazan Palioto Bule^{1&}, Flávia Aparecida Chaves Furlaneto Messoria^{1&}, Mário Taba Jr.^{1¶}.

¹ Department of oral and maxillofacial surgery and periodontology, Ribeirão Preto Dental School, University of São Paulo – USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

* Corresponding author

E-mail: c.tahim@gmail.com (CMT)

¶ These authors contributed equally to this work.

& These authors also contributed equally to this work.

Abstract

Objectives: There is evidence linking the increased risk of cardiovascular disease in patients with periodontitis and that periodontal treatment induces a short-term systemic inflammatory response. This study aimed to evaluate the effect of an acute inflammatory response by monitoring specific biomarkers of acute cardiovascular events triggered by non-surgical periodontal treatment (NSPT).

Material and Methods: Thirty-four periodontal patients were randomly allocated to one of two groups: quadrant debridement (QD) or full mouth debridement (FMD). Periodontal parameters were registered at baseline and after 45 days. Serum samples were drawn before NSPT (baseline), 24 (T2), and 48 hours (T3) after NSPT for copeptin (COP), B-type Natriuretic Peptide (BNP), N-terminal portion of the pro-BNP peptide (NT-proBNP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) analysis.

Results: All periodontal parameters improved at 45 days in both groups. IL-6 and TNF- α expression significantly increased in the first 48 hours. COP was not detected in most patients. For both groups, BNP and NT-proBNP levels reduced in the first 48 hours with no significant difference between experimental periods and a greater reduction in the FMD group.

Conclusion: Data was not able to show that the tissue injury of the periodontal treatment, even generating systemic bacteremia and transient increase in acute inflammation markers, may elevate the expression of specific biomarkers of acute cardiovascular events, at least in systemically healthy patients.

Clinical Relevance: Periodontitis, as well as cardiovascular diseases, are considered the most prevalent chronic non-communicable diseases worldwide, and the association between the two pathologies is increasingly evident. Nonsurgical periodontal treatment is frequently performed in the majority of the population. Patients undergoing routine periodontal procedures are not at an increased risk of acute vascular events during the first 48 hours after treatment, independent of the quadrant debridement (QD) or full mouth debridement (FMD) approach.

Name of the registry and registration number (ensaiosclinicos.gov.br): “Systemic effect of periodontal therapy on risk markers of acute cardiovascular events” — RBR-66tr7h.

Introduction

Periodontitis is a chronic inflammatory disease with multifactorial etiology due to an imbalanced interaction between the local microbiome and the host's inflammatory response (1). Degradation of periodontal tissues results from the uncontrolled expression of cytokines/chemokines and enzymatic activation (2) which results in loss of the support apparatus and tooth loss (3).

The global prevalence of severe periodontitis occurs in 9.8% of individuals (4). Epidemiological surveys indicate an average of 1.1 billion prevalent cases of severe periodontitis worldwide, with the highest number of prevalent severe cases among 40 to 49-year-olds (5). Together, these diseases are responsible for about two-thirds of deaths worldwide (6).

Periodontitis is associated with elevated levels of interleukin-6 (IL-6), alpha tumor necrosis factor (TFN- α), and C-reactive protein (CRP) in blood flow associated with systemic inflammation markers (7-11). Also, evidence shows that elevated levels of inflammatory markers are related to systemic diseases such as cardiovascular diseases (12-14). Inflammation

markers (IL-6, TNF- α , CRP) have been the focus of great diagnostic interest in addition to B-type Natriuretic Peptide (BNP), the N-terminal portion of the pro-BNP peptide (NT-proBNP) and copeptin (COP) (15).

Several prospective studies have shown that IL-6 is a potent biomarker for cardiovascular diseases (CVD) and that there is an increased vascular risk in association with increased levels of IL-6 and TNF- α (16-19). IL-6 stimulates the hepatic production of CRP and regulates the expression of other inflammatory cytokines such as IL-1, metalloproteinases, and TNF- α (20). Likewise, the increase in circulating CRP also stimulates the release of IL-1, IL-6, and TNF- α by activated monocytes (21).

Proper management of the periodontal disease requires, in addition to nonsurgical periodontal treatment, understanding the causal components of the disease at an individual level and adopting personalized treatment modalities such as inflammation modulation (22). Invasive dental treatments (IDTs), such as nonsurgical periodontal treatment (NSPT), trigger short-term acute inflammation (23). Therefore, NSPT causes an elevation of inflammatory markers due to marked systemic dissemination of inflammatory mediators from periodontal pockets and tissues (24).

There is robust evidence that patients with periodontitis are at increased risk of cardiovascular disease and that periodontal treatment has a beneficial effect on reducing risk (25). Nonetheless, periodontal treatment induces an acute inflammatory response with transient elevation of systemic acute-phase proteins (24, 26-28). Bacteremia and tissue damage caused by periodontal treatment increase plasma levels of IL-6, TNF- α , and CRP (29-32). Some of these biomarkers are also elevated in acute cardiovascular events (15).

The literature reports that full mouth scaling and root planning therapy (FM-SRP), compared to quadrant scaling and root planning (Q-SRP), induces a greater acute response, raising IL-6, TNF- α , and CRP. However, specific cardiovascular risk biomarkers such as BNP,

NT-proBNP, and COP have not yet been assessed in the acute phase, only in observational studies or clinical trials with greater follow-up (33-38).

Thus, assessing whether specific markers of acute cardiovascular events also undergo this transient elevation is reasonable, putting patients at risk for an acute cardiovascular event within the first 48 hours after care. This study aimed to evaluate the effect of the systemic acute inflammatory response triggered by two NSPT modalities on the levels of specific biomarkers of cardiovascular risk.

Materials and methods

Subjects and study design

This was a single-blind, randomized controlled trial with two intervention arms with patients returning on day 1, day 2, and day 45 after treatment. The study was approved by the Human Research Ethics Committee of Ribeirão Preto Dental School (FORP-USP) and registered at the Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-66tr7h). The principles in the Declaration of Helsinki and the CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) guidelines (39) were adhered to throughout the trial. The sample size was calculated using software[†]. As previously described by our research group in a preliminary study, it was estimated that a sample size of 34 subjects and considering an estimated dropout rate of 10%, a sample of 19 patients in each study group was determined.

Patients were referred to Ribeirão Preto Dental School from April 2017 to December 2019, and informed consent was obtained from all subjects before the trial (Fig 1). The inclusion criteria were as follows: a minimum of 14 natural teeth, at least 4 of them being molars with at least four pockets with probing depths (PD) ≥ 4 mm and six sites with clinical attachment loss

[†] G*Power 3.1.9.3, Germany.

(CAL) > 3 mm to be considered patients with periodontitis³⁷. Patients included were diagnosed with periodontitis stages II or III³⁸.

The following subjects were excluded: patients with chronic inflammation or immunological conditions, chronic diseases, history of smoking, pregnancy, lactation, and medications such as anti-inflammatories, antibiotics, immunosuppressants, or anticoagulants in the last six months or continuously. The risk of cardiovascular events was assessed previously in all patients selected according to the Brazilian Cardiology Association, where factors such as smoking, hypertension, overweight/ obesity, dyslipidemia, regular physical activity, and psychosocial factors were evaluated (40). Patients in the medium or high-risk categories were excluded from the study and instructed to seek specialized medical care. Similarly, those who dropped out of the study or could not attend scheduled appointments were excluded but continued to receive periodontal treatment.

All clinical procedures and sample collections were carried out at Ribeirão Preto Dental School. Baseline data were gathered, including age, weight, body mass index (BMI), waist circumference, and blood pressure.

Study procedures

At the baseline visit, all selected patients received oral hygiene instructions. An experienced examiner (K.F.C.) carried out all clinical data collection, calibrated before the study. For this purpose, the PD was recorded in 5 patients with at least two teeth with PD \geq 5mm. Each patient was assessed twice in a 48-hour interval with a manual periodontal probe[§]. According to the Kappa coefficient, the examiner was considered calibrated when the agreement index between the repeated measures was equal to or greater than 90%.

[§] PCP UNC 15, Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, IL, EUA.

At baseline and day 45, periodontal clinical parameters were assessed with a manual periodontal probe[§], six sites per tooth, with measurements rounded to the nearest millimeter. It consisted of the evaluation of plaque index (PI, %), bleeding on probing (BOP, %), probing depth (PD, mm), and clinical attachment level (CAL, mm). A radiographic examination of all teeth was performed to confirm the alveolar bone loss at baseline. The measurements were also used to calculate the periodontal inflamed surface area (PISA) (41).

Before NSPT, all patients rinsed 0.12% chlorhexidine for one minute. Both protocols were performed with ultrasound[†], manual Gracey curettes[‡], and no adjuvant medications. NSPT was performed by one experienced periodontist (C.M.T.) in quadrants with a seven-day interval (QD Group) or in a single session, ending up to 24 hours (FMD Group). Patients were evaluated at baseline and after 45 days, and those without clinical signs of disease activity went into support and maintenance therapy.

Participants were allocated into QD or FMD groups by randomization in blocks of 10 using a sequence of random numbers created by a computer program* (Fig 1). An external assistant (DSG) performed the randomization procedure entirely using numeric codes and opaque sealed envelopes. The envelopes were opened by the periodontist (C.M.T.) just before the beginning of the NSPT.

Measurement of circulating biomarkers

For both groups, blood samples were collected before interventions were initiated (baseline), on day 1 (24 hours), and day 2 (48 hours) after the NSPT. For the quadrant debridement (QD) group, day 1 and day 2 samples were collected only before the first treatment session. The samples were centrifuged at room temperature at 3,000 rotations per minute for 8

[†] Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

[‡] Hu-Friedy MFG. Co.Inc., Chicago, IL, EUA.

* Microsoft® Corporation, Santa Rosa, California.

min. About 10 mL of peripheral blood was collected from each patient by vacuum in tubes containing a clot activator. Serum was frozen at -80°C in labeled tubes for later quantitation of proteins. IL-6, TNF- α , COP, BNP, and NT-proBNP levels were measured by ELISA[#]. The examiner responsible for the sample analysis (M.S.T.) was blinded to each sample's group and treatment modality.

Statistical analysis

The data were analyzed using software^{**} and presented as mean \pm standard deviation and median (interquartile interval) to further compare with other studies. For all tests, the statistical significance level was considered at 95% ($p < 0.05$). Inter and Intra- groups analyses for clinical parameters were made using *t-tests*. The protein levels presented asymmetric distributions, and non-parametric tests were applied (Wilcoxon signed-rank test and Mann-Whitney test). The Pearson correlation test was performed to assess whether the initial concentrations of biomarkers were related to the periodontal clinical parameters at baseline.

Results

Study Population and periodontal clinical parameters

In total, 380 patients were recruited for the study. After evaluation, 330 were not considered eligible, and three declined participations. The remaining ones were randomized. Four patients discontinued treatment for personal reasons throughout the study, and seven missed at least one of the follow-up visits. Seventeen patients from each group completed the study protocol and were analyzed (Fig 1). Although the study had many dropouts, it did not

[#] EHPCT and KHA0031 ELISA kits; Thermo Fischer Scientific.

^{**} Statistical Package for the Social Sciences version 22 (IBM SPSS Statistics 22, IBM Corporation, Somers, NY, USA).

significantly change the participant distribution between age, sex, and periodontal status groups. Additionally, a post hoc analysis demonstrated that for 34 individuals, the statistical power of 0.82 was achieved.

All clinical procedures and sample collections run uneventfully. Regarding adverse side effects, only one patient from Group QD reported a fever episode (37.8°C) in the first 24 hours, in addition to the mild sensitivity reported by all patients. No other adverse events were related.

Baseline sample characteristics evidence that there were no differences between groups regarding age, gender, number of teeth, BMI, waist circumference, systolic, and diastolic blood pressure ($p > 0.05$) (Table 1). Nevertheless, for group FMD there were a higher number of overweight individuals (42). The mean number of teeth at baseline was 26.12 ± 3.65 and 25.82 ± 2.67 for QD and FMD groups.

Table 1. Baseline sample characteristics.

Variables	Group QD	Group FMD	P-value
Age (mean \pm SD)	44.06 \pm 11.08	46.18 \pm 10.57	0.57
Male sex (n/%)	6 (35.3)	6 (35.3)	1.00
Number of teeth	26.12 \pm 3.65	25.82 \pm 2.67	0.79
Obesity (n/%)			
Normal weight	7 (41.18)	4 (23.53)	
Overweight	5 (29.41)	10 (58.82)	
Obese	5 (29.41)	3 (17.65)	
BMI (Kg/m ²)	26.71 \pm 4.56	28.22 \pm 4.64	0.35
Waist Circumference (mm)	82.47 \pm 10.73	90.41 \pm 14.70	0.08
Systolic blood pressure (mmHg)	115.88 \pm 9.39	118.82 \pm 6.97	0.31
Diastolic blood pressure (mmHg)	81.76 \pm 10.15	84.12 \pm 10.04	0.50

Notes: BMI: body mass index. *P-values* from *t-tests*.

Variables are expressed as mean \pm standard deviation (SD) or n (%).

When comparing periodontal clinical parameters at baseline and day 45, there was a significant improvement for both groups ($p < 0.05$; Table 2). This included reductions in the percentage of sites with bleeding on probing (QD: 49.90%–23.35%, FMD: 49.01%–24.19%), percentage of teeth with pockets ≥ 5 mm (QD: 55.73%–33.56%, FMD: 50.65%–30.03%), and PISA (QD: 1126.67–474.17 mm², FMD: 1060.43–460.18 mm²). The improvement in clinical

parameters was comparable between treatment groups ($p > 0.05$), except for CAL for the FMD group ($p > 0.05$; Table 2).

Table 2. Periodontal parameters of study groups over time.

	Baseline	45 days	p^a
Plaque index (%)			
<i>Group QD</i>	78.64 ± 21.71	33.47 ± 13.71	0.00*
<i>Group FMD</i>	61.84 ± 23.49	25.17 ± 12.46	0.00*
p^b	0.04	0.07	-
Bleeding on probing (%)			
<i>Group QD</i>	49.90 ± 17.76	23.35 ± 9.60	0.00*
<i>Group FMD</i>	49.01 ± 23.59	24.19 ± 6.74	0.00*
p^b	0.90	0.77	-
Probing depth (mm)			
<i>Group QD</i>	3.49 ± 0.37	2.92 ± 0.39	0.00*
<i>Group FMD</i>	3.32 ± 0.67	2.96 ± 0.60	0.00*
p^b	0.36	0.81	-
Probing depth ≥ 5 mm (percentage of teeth)			
<i>Group QD</i>	55.73 ± 17.42	33.56 ± 20.31	0.00*
<i>Group FMD</i>	50.65 ± 18.29	30.03 ± 19.32	0.00*
p^b	0.42	0.62	-
Clinical attachment loss (mm)			
<i>Group QD</i>	4.13 ± 0.82	3.48 ± 0.54	0.00*
<i>Group FMD</i>	3.73 ± 0.73	3.61 ± 0.87	0.34
p^b	0.14	0.61	-
Clinical attachment loss ≥ 5 mm (number of teeth)			
<i>Group QD</i>	65.27 ± 17.19	51.54 ± 21.38	0.00*
<i>Group FMD</i>	62.21 ± 17.56	51.44 ± 24.32	0.00*
p^b	0.60	1	-
PISA (mm²)			
<i>Group QD</i>	1126.67 ± 491.16	474.17 ± 352.97	0.00*
<i>Group FMD</i>	1060.43 ± 639.67	460.18 ± 270.68	0.00*
p^b	0.52	0.93	-

Notes: ^aIntra-group comparison. ^bInter-group comparison. *P-values* from *t-tests*. * p -value < 0.05.

Variables are expressed as mean ± standard deviation. Values for *Probing depth* ≥ 5 mm are expressed as a percentage of inflamed teeth ± standard deviation and for *Clinical attachment loss* ≥ 5 mm percentage of teeth ± standard deviation.

Systemic biomarkers

There were low levels of serum COP in most patients, with most samples below the assay detection limit. Additionally, both groups observed no significant differences at the experimental time points ($p > 0.05$; Table 3). For BNP, although there was a vital reduction at T2 ($\Delta = -1.77$) and T3 ($\Delta = -1.92$) for the FMD Group compared to baseline values, this variation remained with no statistical significance ($p > 0.05$; Table 3). For NT-proBNP, there were no variations above the experimental time points for the QD Group ($p > 0.05$; Table 3). There was

a slight NT-proBNP reduction in the first 24 hours for the FMD Group, but with no difference over time. For all experimental times, there was a difference between the groups ($p < 0.05$; Table 3).

Table 3. Serum levels of circulating biomarkers over the study for both QD ($n = 17$) and FMD ($n = 17$) group (mean \pm standard deviation / median and interquartile interval)

	T1	T2	T3	p ^a	p ^b	p ^c
COP (pg/mL)						
<i>Group QD</i>	0.29 \pm 0.60 0 (0- 0.46)	0.12 \pm 0.42 0 (0- 0)	0.20 \pm 0.55	0.05*	0.07	0.21
<i>Group FMD</i>	0.33 \pm 1.35 0 (0- 0)	0.01 \pm 0.02 0 (0- 0)	0.02 \pm 0.08	0.65	0.65	0.65
<i>p^d</i>	0.05	0.25	0.08	-	-	-
BNP (pg/mL)						
<i>Group QD</i>	14.05 \pm 19.67 7.12 (0- 23.56)	13.67 \pm 19.97 4.83 (0- 22.83)	14.21 \pm 21.00 6.54 (0- 17.41)	0.44	0.51	0.80
<i>Group FMD</i>	10.57 \pm 28.50 3.70 (0- 7.56)	8.80 \pm 20.66 2.52 (0- 6.61)	8.65 \pm 20.78 2.18 (0- 8.19)	0.97	0.35	0.79
<i>p^d</i>	0.43	0.70	0.45	-	-	-
nt-proBNP (pg/mL)						
<i>Group QD</i>	0.12 \pm 0.02 0.12 (0.10- 0.12)	0.12 \pm 0.02 0.12 (0.10- 0.12)	0.12 \pm 0.01 0.12 (0.11- 0.12)	0.39	0.57	0.39
<i>Group FMD</i>	0.10 \pm 0.05 0.08 (0.08- 0.11)	0.01 \pm 0.03 0.08 (0.08- 0.12)	0.10 \pm 0.02 0.08 (0.08- 0.12)	0.77	0.73	0.35
<i>p^d</i>	0.00*	0.00*	0.01*	-	-	-

Notes: p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): values from the intra-group comparison (Wilcoxon test). p^d: values from the inter-group comparison (Mann Whitney test). *p-value < 0.05 .

T1: baseline, before NSPT; T2: 24 hours after the NSPT was initiated; T3: 48 hours after the NSPT was initiated.

Regarding systemic cytokines (Table 4), at all times, IL-6 serum concentrations were higher for the QD Group. However, an intragroup analysis detected a difference only at 48 hours for the QD Group ($p^c < 0.05$). For TNF- α , there were no differences between groups over time ($p^d > 0.05$), and a significant difference was found only for the QD Group at 24 hours ($p^a < 0.05$).

Table 4. Serum levels of cytokines (pg/ml) over the study in QD (n = 17) and FMD (n = 17) groups (mean ± standard deviation / median and interquartile interval).

	T1	T2	T3	p ^a	p ^b	p ^c
IL-6 (pg/mL)						
<i>Group QD</i>	0.09 ± 0.04 0.09 (0.07- 0.09)	0.11 ± 0.04 0.09 (0.08- 0.13)	0.11 ± 0.06 0.09 (0.08- 0.11)	0.05	0.38	0.03*
<i>Group FMD</i>	0.04 ± 0.03 0.03 (0.02- 0.03)	0.06 ± 0.05 0.03 (0.02- 0.10)	0.05 ± 0.04 0.03 (0.02- 0.09)	0.12	0.24	0.33
<i>p^d</i>	0.00*	0.00*	0.00*	-	-	-
TNF-α (pg/mL)						
<i>Group QD</i>	0.07 ± 0.02 0.06 (0.06- 0.09)	0.08 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.07 ± 0.02 0.06 (0.06- 0.09)	0.04*	0.06	0.67
<i>Group FMD</i>	0.07 ± 0.01 0.07 (0.06- 0.08)	0.08 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.07 ± 0.01 0.07 (0.06- 0.09)	0.08	0.73	0.07
<i>p^d</i>	0.99	0.99	0.57	-	-	-

Notes: p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): values from the intra-group comparison (Wilcoxon test). P^d: values from the inter-group comparison (Mann Whitney test). *p-value < 0.05.

T1: baseline, before NSPT; T2: 24 hours after the NSPT was initiated; T3: 48 hours after the NSPT was initiated.

Since the clinical results resulting from periodontal treatment were equivalent in both groups, a new analysis was performed considering the entire sample. It was possible to detect a significant increase in IL-6 serum levels at T1 and T2 (p < 0.05). Additionally, for TNF-α, the increase was detected only in T1 (p < 0.05) and for COP, in the first 24 hours there was a reduction in systemic levels (p < 0.05).

Table 5. Serum levels of circulating biomarkers over the study for the whole sample (n=34). Data expressed as mean ± standard deviation / median (interquartile interval).

	T1	T2	T3	p ^a	p ^b	p ^c
COP (pg/mL)	0.31 ± 1.03 0 (0- 0)	0.06 ± 0.30 0 (0- 0)	0.11 ± 0.40 0 (0- 0)	0.04*	0.07	0.20
BNP (pg/mL)	12.31 ± 24.28 3.92 (0- 9.65)	11.24 ± 20.16 3.39 (0- 10.45)	11.43 ± 20.76 3.88 (0- 11.30)	0.58	0.96	0.90
nt-proBNP (pg/mL)	0.11 ± 0.04 0.10 (0.08- 0.12)	0.11 ± 0.03 0.10 (0.08- 0.12)	0.11 ± 0.02 0.11 (0.08- 0.12)	0.52	0.48	0.26

IL-6 (pg/mL)	0.07 ± 0.04 0.07 (0.03- 0.09)	0.08 ± 0.05 0.09 (0.03- 0.12)	0.08 ± 0.06 0.08 (0.03- 0.10)	0.01*	0.12	0.01*
TNF-α (pg/mL)	0.07 ± 0.01 0.07 (0.06- 0.09)	0.08 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.07 ± 0.02 0.07 (0.06- 0.09)	0.00*	0.06	0.41

Notes: p^a (T1-T2), p^b (T2-T3), p^c (T1-T3): values from the intra-group comparison (Wilcoxon test). p^d: values from the inter-group comparison (Mann-Whitney test). *p-value < 0.05.

T1: baseline before NSPT; T2: 24 hours after the NSPT was initiated; T3: 48 hours after the NSPT was initiated.

As shown in Table 6, a moderate positive correlation between NT-proBNP and TNF-α for both groups (QD p < 0.05; FMD p < 0.05; Total sample p < 0.05) and IL-6 just for the FMD group (p < 0.05) and when the whole sample was considered for analysis (p < 0.05).

Table 6. Correlation of serum N-terminal-pro-Brain natriuretic peptide (NT-proBNP) levels, systemic biomarkers and periodontal clinical parameters.

		Systemic biomarkers			Periodontal Clinical Parameter
		BNP	IL-6	TNF-α	PISA
Group QD (n=17)	R	-,105	,127	,538*	-,208
	p	,689	,627	,026	,423
Group FMD (n=17)	R	-,091	,683**	,668**	-,104
	p	,728	,002	,003	,690
Total sample (n=34)	R	-0,072	,423*	,521**	-,104
	p	0,684	0,013	0,002	,560

Notes: Pearson's Correlation test.

** . A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

* . A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

Discussion

This randomized controlled trial aimed to evaluate the effect of two periodontal treatment modalities on the acute phase response of cardiovascular biomarkers. As expected, all periodontal parameters were improved after NSPT. Concerning the tissue injury, bacteremia, and stress of the periodontal treatment, it was observed an increase in the expression of IL-6 and TNF-α in the first 24-48h. Overall, small benefits in BNP concentrations were observed in the first 24 hours after periodontal treatment. Also, there was a slight NT-proBNP reduction in the first 24 hours in the FMD Group.

BNP is a neurohormone synthesized in the ventricle and released into the circulation in response to ventricular dilatation and pressure overload on the myocardial wall (43, 44). BNP and its prohormone NT-proBNP are considered an important prognostic test for CVD, such as acute myocardial infarction, unstable angina, and arrhythmias (44, 45). The intensity of the stimulus and the stress response depends on the magnitude and duration of the stress factor (46).

There is little evidence in the literature linking psychological stress to lower systemic levels of BNP and NT-proBNP. This would probably be due to the different mechanisms involved in their release. Physical stress results in more outstanding release directly into the heart muscle (46). In psychological stress situations, atrial natriuretic peptide (ANP) is released from the hypothalamic-pituitary pathway, directly suppressing the secretion of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), featuring a hypothalamic pathway (47). Thus, since the cardiac and hypothalamic systems are separate, circulating levels of BNP and NT-proBNP are a result of atrial stimulation and release (46, 47)

The results of the present study could then be explained by the fact that periodontal treatment, regardless of the modality, although it causes tissue injury, this stimulus would not be sufficient to cause the release of BNP and NT-proBNP through the cardiac pathway. Since the literature reports that one of the consequences of periodontitis is stress (48), in addition to the stress of the clinical session, this would result in release through the hypothalamic system, which is not detected in the systemic circulation. This could explain why, in the present study, the systemic levels of BNP were reduced, and NT-proBNP did not undergo significant changes.

Serum NT-proBNP levels may be increased due to systemic inflammation in the absence of cardiac dysfunction (49) suggesting that periodontal inflammation may contribute to elevated serum NT-proBNP levels (33). A strong positive correlation between periodontal clinical parameters and serum concentrations of NT-proBNP was found in periodontal patients

with chronic conditions (33), unlike the results of the present study, where this correlation was not found. We can speculate that this difference is because our sample did not involve patients considered to be at cardiovascular risk, such as smokers and diabetics. The decision not to include cardiovascular risk patients in this study was based on the concern of avoiding putting the patients intentionally under stress and tissue injury to evaluate serum biomarkers. BNP and NT-proBNP are most strongly correlated with age and vary widely over time, even in clinically stable patients (50).

The intensity of an acute body response following different types of periodontal therapy was first described by a prospective cohort trial. The results demonstrate that periodontal therapies induced acute systemic inflammatory responses of different magnitudes, including coagulation changes (27). Immediately after the intervention, patients treated with NSPT display an increase in TNF- α , CRP, and IL-6 due to the trauma caused by the instrumentation of periodontal tissues and consequently inoculation of bacteria in the bloodstream (31, 32).

After a 1-stage full mouth scaling and root planning two-hour protocol, one-day post-treatment, there was a 5-fold increase for IL-6 and a 1.1-fold increase for TNF- α (51). Whereas in the present study, the full mouth protocol was concluded within 24 hours, and a 1.5-fold for IL-6 and 1.1-fold for TNF- α was found, consistent with the literature (24, 26, 31, 51).

When comparing different approaches for periodontal debridement, it was previously described that FMD induced a more significant elevation in serum levels of IL-6 and TNF- α than QD (26). Although increased positively, the results from the present study only reach statistical significance for TNF- α and at the QD-group. This could be explained by some variability that could influence this acute phase reaction, such as the periodontal status of the sample, the instrumentation duration, and the immune response of the individual enrolled in the studies (51).

For both groups, no serum levels of copeptin were detected in most patients involved in the study. Copeptin is derived from a precursor peptide (preprovasopressin) along with neurophysin II and arginine vasopressin (AVP) and is released in equimolar amounts to AVP by the hypothalamus in response to hypovolemia and changes in plasma osmolality (52). The serum concentration of copeptin increases in several clinical conditions, such as cardiovascular diseases (53). No publications relate periodontitis or periodontal treatment to changes in copeptin levels. Our data suggest that periodontal treatment, regardless of the modality used, could not induce stress at a significant level to induce copeptin release.

There is strong evidence suggesting an increased risk of cardiovascular events such as heart attack in patients with periodontitis (54-59) and how periodontal treatment may reduce this risk in the long term (57, 60, 61). Also, meta-analyses data from observational studies have established a link between periodontal disease and CVDs with ORs of 1.18–2.93 (62, 63). Some mechanisms may be related to this association. Upon entering the bloodstream through the ulcerated epithelium of periodontal pockets, pathogens and their products can directly alter the pathogenesis of the cardiovascular disease (64, 65). Potential risk factors such as low-grade systemic inflammation from periodontitis and the biological mechanism of this association are currently being investigated.

Considering the hypothesis that periodontal therapy may increase markers related to cardiovascular stress in the short term because of tissue injury and acute inflammatory response is reasonable. The data from the present study shows that both nonsurgical periodontal therapy modalities increase transient local inflammation. General changes in systemic inflammation were explicitly observed for two cytokines (IL-6 and TNF), in line with what has already been consolidated in previous studies (26-28, 31, 51). Specific markers of acute cardiovascular events such as copeptin do not appear to be altered in patients with periodontitis and do not change because of periodontal therapy within the first 48 hours. On the other hand, BNP in

systemically healthy patients was reduced in both groups in the first 48 hours after non-surgical periodontal treatment, and NT-proBNP does not seem to undergo significant changes.

We can cautiously suggest that non-surgical periodontal treatment, regardless of the modality adopted, does not seem to put patients at risk of developing acute cardiovascular events in the first 48 hours after treatment. In addition, both modalities resulted in a short-term reduction in BNP, reducing even the short-term risk of an acute cardiovascular event.

Limitations of this study include the use of surrogate and non-true outcomes, a limited sample size, and a short follow-up. In the present study, we used the concept that Il-6, TNF, and BNP are also elevated in periodontitis. The significant differences between groups observed in the analyses should be interpreted cautiously due to the reduced sample size for comparisons.

Thus, we can infer that periodontal treatment, even generating systemic bacteremia and a transient increase in acute inflammation is safe to perform in systemically healthy patients. More studies with larger sample sizes, including patients with systemic diseases, are needed to support better the decision of which therapy to use in patients who are already classified as at higher cardiovascular risk.

Acknowledgments

The authors are deeply grateful to the clinical and administrative staff members of Ribeirão Preto Dental School for their support during the trial. Especially to Diego de Sousa Guerra (DSG) and Karine Figueredo da Costa (KFC) for having collaborated with the randomization and periodontal evaluations, respectively.

Sources of funding

This study was financed by the São Paulo Research Foundation- FAPESP, grant number 2017/20770-6 to MTJ, in cooperation with the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

References

1. Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(7):426-40.
2. Kurgan S, Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol 2000*. 2018;76(1):51-67.
3. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45 Suppl 20:S162-S70.
4. Collaborators GBDOD, Bernabe E, Marcenes W, Hernandez CR, Bailey J, Abreu LG, et al. Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res*. 2020;99(4):362-73.
5. Chen MX, Zhong YJ, Dong QQ, Wong HM, Wen YF. Global, regional, and national burden of severe periodontitis, 1990-2019: An analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *J Clin Periodontol*. 2021;48(9):1165-88.
6. Gamonal J, Bravo J, Malheiros Z, Stewart B, Morales A, Cavalla F, et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section I: Introduction part I. *Braz Oral Res*. 2020;34(suppl 1):e024.
7. Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation*. 1994;90(4):2126-46.
8. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2002;22(7):1162-7.
9. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *Bmj*. 2000;321(7255):199-204.

10. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *The New England journal of medicine*. 2004;350(14):1387-97.
11. Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;83(2):456S-60S.
12. Zeng XT, Leng WD, Lam YY, Yan BP, Wei XM, Weng H, et al. Periodontal disease and carotid atherosclerosis: A meta-analysis of 17,330 participants. *Int J Cardiol*. 2016;203:1044-51.
13. Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*. 2005;76(11 Suppl):2089-100.
14. Hosomi N, Aoki S, Matsuo K, Deguchi K, Masugata H, Murao K, et al. Association of serum anti-periodontal pathogen antibody with ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2012;34(5-6):385-92.
15. Chan D, Ng LL. Biomarkers in acute myocardial infarction. *BMC Med*. 2010;8:34.
16. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England journal of medicine*. 2000;342(12):836-43.
17. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000;101(15):1767-72.
18. Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clinical cardiology*. 2001;24(11):701-4.
19. Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, Balfour J, Chaves P, Fried LP, et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation*. 2001;103(7):947-53.
20. Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wacholder S, Ettinger WH, Jr., et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *The American journal of medicine*. 1999;106(5):506-12.
21. Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*. 2001;103(21):2531-4.
22. Kononen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *J Clin Med*. 2019;8(8).

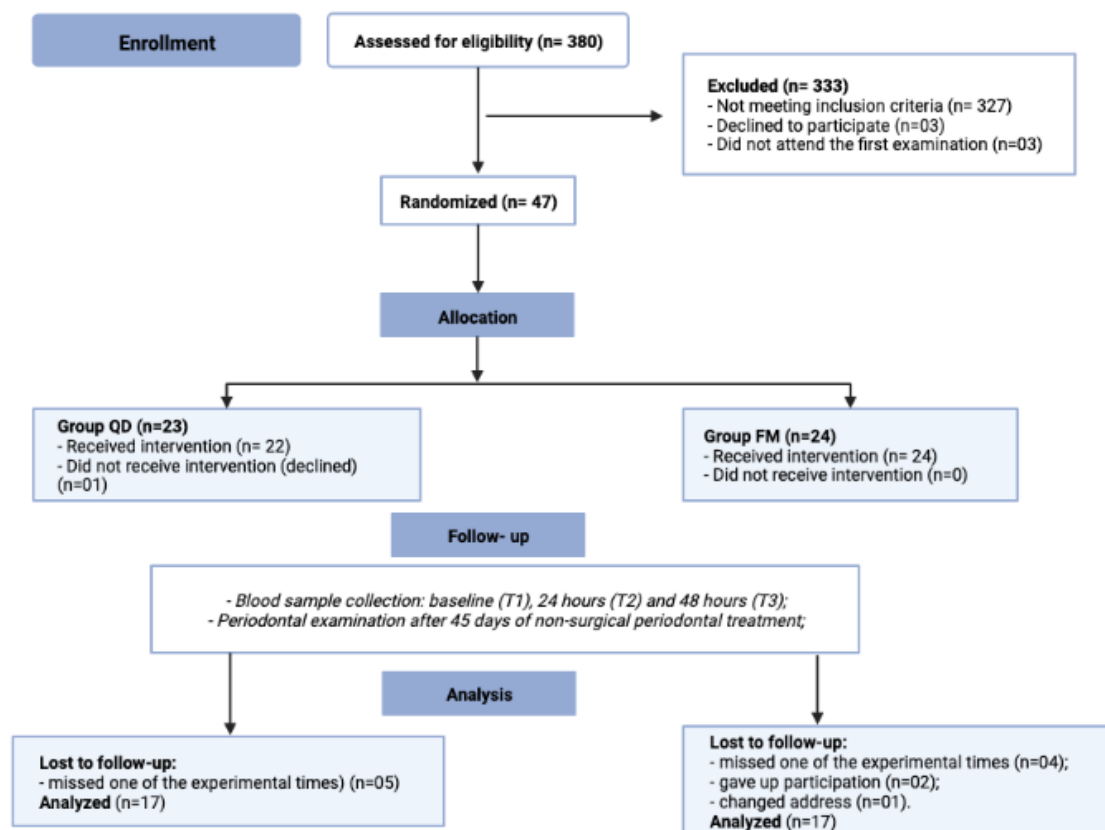
23. Luthra S, Orlandi M, Leira Y, Bokre D, Marletta D, Rotundo R, et al. Invasive dental treatment and acute vascular events: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2022;49(5):467-79.
24. D'Aiuto F, Parkar M, Tonetti MS. Acute effects of periodontal therapy on bio-markers of vascular health. *J Clin Periodontol.* 2007;34(2):124-9.
25. Sanz M, Marco Del Castillo A, Jepsen S, Gonzalez-Juanatey JR, D'Aiuto F, Bouchard P, et al. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *J Clin Periodontol.* 2020;47(3):268-88.
26. Graziani F, Cei S, Orlandi M, Gennai S, Gabriele M, Filice N, et al. Acute-phase response following full-mouth versus quadrant non-surgical periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2015;42(9):843-52.
27. Graziani F, Cei S, Tonetti M, Paolantonio M, Serio R, Sammartino G, et al. Systemic inflammation following non-surgical and surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2010;37(9):848-54.
28. Giannopoulou C, Cappuyns I, Cancela J, Cionca N, Mombelli A. Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. *J Periodontol.* 2012;83(8):1018-27.
29. Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MC, de Souza AM, Faccioli LH, et al. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol.* 2009;80(4):594-602.
30. Rastogi P, Singhal R, Sethi A, Agarwal A, Singh VK, Sethi R. Assessment of the effect of periodontal treatment in patients with coronary artery disease : A pilot survey. *J Cardiovasc Dis Res.* 2012;3(2):124-7.
31. Ide M, Jagdev D, Coward PY, Crook M, Barclay GR, Wilson RF. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. *J Periodontol.* 2004;75(3):420-8.
32. Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med.* 2007;356(9):911-20.
33. Leira Y, Blanco J. Brain natriuretic peptide serum levels in periodontitis. *J Periodontal Res.* 2018;53(4):575-81.
34. Rathnayake N, Buhlin K, Kjellstrom B, Klinge B, Lowbeer C, Norhammar A, et al. Saliva and plasma levels of cardiac-related biomarkers in post-myocardial infarction patients. *J Clin Periodontol.* 2017;44(7):692-9.

35. Wang Y, Liu HN, Zhen Z, Pelekos G, Wu MZ, Chen Y, et al. A randomized controlled trial of the effects of non-surgical periodontal therapy on cardiac function assessed by echocardiography in type 2 diabetic patients. *J Clin Periodontol.* 2020;47(6):726-36.
36. Loo WY, Yue Y, Fan CB, Bai LJ, Dou YD, Wang M, et al. Comparing serum levels of cardiac biomarkers in cancer patients receiving chemotherapy and subjects with chronic periodontitis. *J Transl Med.* 2012;10 Suppl 1:S5.
37. Czerniuk MR, Bartoszewicz Z, Filipiak KJ, Dudzik-Niewiadomska I, Pilecki T, Gorska R. Plasmatic NT-proBNP concentrations in patients with coexistent periodontal disease and congestive heart failure: pilot studies. *Kardiol Pol.* 2017;75(2):135-42.
38. Dekker RL, Lennie TA, Moser DK, Miller CS, Ebersole JL, Chung ML, et al. Salivary Biomarkers, Oral Inflammation, and Functional Status in Patients With Heart Failure. *Biol Res Nurs.* 2017;19(2):153-61.
39. Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ.* 2010;340:c332.
40. Simao AF, Precoma DB, Andrade JP, Correa Filho H, Saraiva JF, Oliveira GM, et al. I cardiovascular prevention guideline of the Brazilian Society of Cardiology - executive summary. *Arq Bras Cardiol.* 2014;102(5):420-31.
41. Nesse W, Abbas F, van der Ploeg I, Spijkervet FK, Dijkstra PU, Vissink A. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol.* 2008;35(8):668-73.
42. World Health Organization. Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 2000. xii, 253 p. p.
43. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet.* 2003;362(9380):316-22.
44. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *The New England journal of medicine.* 2004;350(7):655-63.
45. Ogawa A, Seino Y, Yamashita T, Ogata K, Takano T. Difference in elevation of N-terminal pro-BNP and conventional cardiac markers between patients with ST elevation vs non-ST elevation acute coronary syndrome. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society.* 2006;70(11):1372-8.
46. Amir O, Sagiv M, Eynon N, Yamin C, Rogowski O, Gerzy Y, et al. The response of circulating brain natriuretic peptide to academic stress in college students. *Stress.* 2010;13(1):83-90.


47. Antoni FA, Hunter EF, Lowry PJ, Noble JM, Seckl JR. Atriopeptin: an endogenous corticotropin-release inhibiting hormone. *Endocrinology*. 1992;130(3):1753-5.
48. Pasnik-Chwalik B, Konopka T. Impact of periodontitis on the Oral Health Impact Profile: A systematic review and meta-analysis. *Dent Med Probl*. 2020;57(4):423-31.
49. Jensen J, Ma LP, Fu ML, Svaninger D, Lundberg PA, Hammarsten O. Inflammation increases NT-proBNP and the NT-proBNP/BNP ratio. *Clin Res Cardiol*. 2010;99(7):445-52.
50. Voors AA, von Haehling S, Anker SD, Hillege HL, Struck J, Hartmann O, et al. C-terminal provasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *Eur Heart J*. 2009;30(10):1187-94.
51. Morozumi T, Yashima A, Gomi K, Ujiie Y, Izumi Y, Akizuki T, et al. Increased systemic levels of inflammatory mediators following one-stage full-mouth scaling and root planing. *J Periodontol Res*. 2018;53(4):536-44.
52. Morgenthaler NG, Struck J, Jochberger S, Dunser MW. Copeptin: clinical use of a new biomarker. *Trends Endocrinol Metab*. 2008;19(2):43-9.
53. Parizadeh SM, Ghandehari M, Parizadeh MR, Ferns GA, Ghayour-Mobarhan M, Avan A, et al. The diagnostic and prognostic value of copeptin in cardiovascular disease, current status, and prospective. *J Cell Biochem*. 2018;119(10):7913-23.
54. Hada DS, Garg S, Ramteke GB, Ratre MS. Effect of Non-Surgical Periodontal Treatment on Clinical and Biochemical Risk Markers of Cardiovascular Disease: A Randomized Trial. *J Periodontol*. 2015;86(11):1201-11.
55. Liu W, Cao Y, Dong L, Zhu Y, Wu Y, Lv Z, et al. Periodontal therapy for primary or secondary prevention of cardiovascular disease in people with periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;12:CD009197.
56. Tiensripojarn N, Lertpimonchai A, Tavedhikul K, Udomsak A, Vathesatogkit P, Sritara P, et al. Periodontitis is associated with cardiovascular diseases: A 13-year study. *J Clin Periodontol*. 2021;48(3):348-56.
57. Orlandi M, Graziani F, D'Aiuto F. Periodontal therapy and cardiovascular risk. *Periodontol* 2000. 2020;83(1):107-24.
58. Ryden L, Buhlin K, Ekstrand E, de Faire U, Gustafsson A, Holmer J, et al. Periodontitis Increases the Risk of a First Myocardial Infarction: A Report From the PAROKRANK Study. *Circulation*. 2016;133(6):576-83.

59. Fagundes NCF, Almeida A, Vilhena KFB, Magno MB, Maia LC, Lima RR. Periodontitis As A Risk Factor For Stroke: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Vasc Health Risk Manag.* 2019;15:519-32.
60. Bokhari SA, Khan AA, Butt AK, Azhar M, Hanif M, Izhar M, et al. Non-surgical periodontal therapy reduces coronary heart disease risk markers: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol.* 2012;39(11):1065-74.
61. Roca-Millan E, Gonzalez-Navarro B, Sabater-Recolons MM, Mari-Roig A, Jane-Salas E, Lopez-Lopez J. Periodontal treatment on patients with cardiovascular disease: Systematic review and meta-analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2018;23(6):e681-e90.
62. Blaizot A, Vergnes JN, Nuwwareh S, Amar J, Sixou M. Periodontal diseases and cardiovascular events: meta-analysis of observational studies. *Int Dent J.* 2009;59(4):197-209.
63. Xu S, Song M, Xiong Y, Liu X, He Y, Qin Z. The association between periodontal disease and the risk of myocardial infarction: a pooled analysis of observational studies. *BMC Cardiovasc Disord.* 2017;17(1):50.
64. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol.* 2013;40 Suppl 14:S1-7.
65. Aimetti M, Romano F, Nessi F. Microbiologic analysis of periodontal pockets and carotid atheromatous plaques in advanced chronic periodontitis patients. *J Periodontol.* 2007;78(9):1718-23.

Figure 1. Flow chart of the study.



S1. CONSORT Check-list of the study.

 CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial*			
Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
Title and abstract	1a	Identification as a randomised trial in the title	1
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	2
Introduction Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	3-5
	2b	Specific objectives or hypotheses	5
Methods			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	5-8
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	6
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	6
	4b	Settings and locations where the data were collected	6-8
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	5-8
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	5-8
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	5-8
Sample size	7a	How sample size was determined	5-6
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	-
Randomisation: Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	7-8
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	7-8
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	7-8
	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	7-8
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those	7-9
CONSORT 2010 checklist Page 1			
Statistical methods		assessing outcomes) and how	
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	5-8
	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	8-9
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	8-9
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	9
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	9
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	6-8
	14b	Why the trial ended or was stopped	5-7
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	9
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	9-10
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	9-13
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	9-13
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	9-13
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	9-13
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	14-18
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	14-18
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	14-18
Other information			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	3
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	5-8
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	18

*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming: for those and for up to date references relevant to this checklist, see www.consort-statement.org.

Apêndices

APÊNDICE A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Catarina Martins Tahim, cirurgiã-dentista e Professor Doutor Mário Taba Júnior, responsáveis pela pesquisa, gostaríamos de convidar você, Sr(a) _____, portador

do documento _____ à participar da pesquisa intitulada "Efeito sistêmico da terapia periodontal nos marcadores de risco de eventos cardiovasculares agudos" que tem como objetivo avaliar a presença de substâncias no seu sangue que podem estar relacionadas ao risco de desenvolver doenças do coração durante o tratamento das gengivas em uma sessão ou em quatro sessões. Para isso, estamos desenvolvendo um estudo juntamente com o Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP) que terá as seguintes etapas: explicação sobre os objetivos da pesquisa, assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, realização dos procedimentos clínicos e coleta das amostras, acompanhamento pós-operatório, reavaliação clínica e confecção de um artigo científico a partir dos dados obtidos.

Por essa razão, convidamos você a participar da pesquisa. A sua participação consistirá em comparecer a todas as sessões para a realização dos seguintes procedimentos:

- 1) Exame clínico e periodontal detalhado no primeiro dia de atendimento e 30 dias após a conclusão do tratamento da gengiva;
- 2) Tratamento da gengiva: será feito raspagem e alisamento da raiz do dente para melhorar a saúde das gengivas e do osso ao redor do dente em um único atendimento ou em quatro consultas;
- 3) Coleta de 10 ml de sangue (aproximadamente uma colher de sopa) em quatro momentos: antes do início do tratamento; logo após o tratamento da gengiva e do osso ao redor do dente (no máximo 1 hora após); 24 horas após o atendimento e 48 após o tratamento ter sido concluído. O seu sangue será coletado na Clínica de Pós-Graduação Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP) pelos pesquisadores participantes da pesquisa devidamente treinados e armazenado para ser utilizado apenas nesta pesquisa.

O questionário inicial poderá levar algum tempo para ser respondido e todas as informações fornecidas nele são mantidas em segredo. O tratamento da gengiva e a coleta de sangue poderão gerar algum desconforto que serão reduzidos pela execução destes pelos pesquisadores responsáveis devidamente treinados e capacitados para realizar esse tratamento. Todos os cuidados antes, durante e após os atendimentos serão tomados objetivando a execução segura dos procedimentos e reduzindo possíveis desconfortos.

Nos casos em que os procedimentos executados no estudo tragam algum desconforto ou sejam detectadas alterações que necessitem de assistência imediata ou tardia, eu, Catarina Martins Tahim serei a responsável pelo encaminhamento à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FOR-USP), onde serão tomadas as medidas de assistência necessária.

Os benefícios esperados com este estudo são no sentido de oferecer todo o tratamento até a gengiva e do osso ao redor do dente estejam saudáveis com acompanhamento a cada seis meses. Caso necessário, você será encaminhado a outros setores da Clínica para tratamento das demais necessidades odontológicas.

Rubrica do Pesquisador Responsável

Rubrica do Participante



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Toda informação e todo o sangue coletado que você fornecer será utilizado somente para esta pesquisa. Os dados pessoais, resultados de exames laboratoriais e fotografias serão confidenciais e seu nome não aparecerá em fotografias ou apresentações, inclusive quando os dados forem apresentados.

A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Caso aceite participar, será fornecida ajuda para custear o transporte até a instituição onde será realizada pesquisa. Você não sofrerá qualquer prejuízo se não aceitar ou caso desista após ter iniciado os exames iniciais, tratamento da gengiva ou coleta de sangue.

Se tiver alguma dúvida a respeito dos objetivos da pesquisa e/ou métodos utilizados na mesma, pode procurar Catarina Martins Tahim no seguinte endereço: Av. do Café, s/n, Ribeirão Preto - SP, telefone (16) 3633-1876 ou ainda pelo telefone pessoal (16) 99788-3047.

Se desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa, ou ainda relatar ocorrências irregulares ou que lhe causem algum prejuízo durante a sua participação no estudo poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto- FORP- USP no seguinte endereço: Av. do Café, s/n, Ribeirão Preto - SP, telefone (16) 3315-0493 das 8h às 12h, de segunda a sexta-feira (exceto feriados e pontos facultativos).

Finalmente, tendo compreendido tudo o que foi informado sobre a sua participação e sobre os seus direitos, suas responsabilidades, além dos riscos e benefícios desta pesquisa, e caso concorde em participar dessa pesquisa de livre e espontânea vontade, favor assinar no campo específico abaixo dando o consentimento para a realização dos procedimentos da pesquisa. Este termo é confeccionado em duas vias, sendo que uma via ficará com você.

 Pesquisador Responsável- Mário Taba Jr
 CPF: 070.562.408-1

 Pesquisadora Participante- Catarina Martins Tahim
 CPF: 000.784.281-30

 Participante
 RG: _____

Ribeirão Preto, ____ / ____ / _____