

Pérola Michelle de Vasconcelos Caribé

**Influência do tratamento da doença periodontal na sirtuína 1 e na lectina
ligadora de manose em indivíduos com doença arterial coronária**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. Antonio de Padua Mansur

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Caribé, Pérola Michelle de Vasconcelos
II Influência do tratamento da doença periodontal
na sirtuína 1 e na lectina ligadora de manose em
indivíduos com doença arterial coronária / Pérola
Michelle de Vasconcelos Caribé. -- São Paulo, 2018.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientador: Antonio de Padua Mansur.

Descritores: 1.Doenças periodontais
2.Aterosclerose 3.Proteína ligadora de manose
4.Sirtuínas 5.Periodontite 6.Inflamação

USP/FM/DBD-459/18

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha filha, Isabela, com todo amor do mundo.

Ao meu esposo, Rodolfo, por sua compreensão,

carinho e apoio.

Aos meus pais, Graça e Antônio Caribé, pelo forte alicerce que me deram.

Ao meu irmão e sua esposa, Paulo e Thayenne, pelo carinho e ajuda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir ir mais além.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Antonio de Padua Mansur, pela contribuição para meu crescimento científico e intelectual e por sempre acreditar no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Giuseppe Romito pela co-orientação, pelo apoio e parceria que permitiram a realização desse trabalho.

À Profa. Dra. Cristina Villar pela atenção, carinho e apoio durante o processo de execução deste trabalho.

À Dra Célia Strunz pelo cuidado e apoio laboratorial no estudo.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio M. Cesar por ter gentilmente aceitado participar da banca de qualificação.

À amiga e eterna orientadora Profa. Dra. Ana Paula Veraz Sobral por me ensinar o amor pela ciência desde o início de minha vida acadêmica, sempre com carinho e muita competência.

Às amigas que a medicina na Unisa me presenteou por todo amor, apoio e ajuda para que eu conseguisse sobrepujar minhas ausências durante a realização dessa tese.

Aos mestres e doutores da Pós-Graduação em Cardiologia da Universidade de São Paulo, por alicerçarem a minha formação com dedicação ao ensino.

Agradecimento especial aos pacientes que participaram desse estudo.

À secretária de Pós-Graduação pelo fomento ao nosso estudo.

*Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe
tudo. Todos nós sabemos alguma
coisa. Todos nós ignoramos alguma
coisa. Por isso, aprendemos sempre.*

Paulo Freire

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Doença periodontal e doença aterosclerótica.....	01
1.2. Proteína ligadora de manose.....	06
1.3. Sistema das Sirtuínas.....	09
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivos primários.....	13
2.2. Objetivos secundários.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Avaliação clínica e terapia periodontal.....	15
3.2. Análises laboratoriais.....	18
3.2.1. Determinação da concentração sérica de MBL.....	19
3.2.2. Determinação da concentração sérica de SIRT1.....	20
3.3. Análise estatística.....	20
4. RESULTADOS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	30
6. CONCLUSÃO.....	35
7. REFERÊNCIAS.....	36

Apêndices

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Cálculo do tamanho amostral. Diferença das médias da concentração sérica da Sirt1 antes e após as intervenções	23
Figura 2.	Concentrações séricas de SIRT1 e MBL nos momentos inicial e final do estudo dos grupos sem DP (DP ⁻) (figuras à esquerda), e com DP ⁺ (figuras à direita)	31
Figura 3	Gráficos mostram a distribuição de médias de concentrações de MBL e SIRT 1 nos grupos estudados	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Modelo de efeitos mistos bidirecionais onde os efeitos das pessoas são aleatórios e os efeitos das medidas são fixos	23
Tabela 2.	Características clínicas e laboratoriais dos 78 participantes da pesquisa	27
Tabela 3.	Características clínicas e laboratoriais do grupo sem DP (DP ⁻)	29
Tabela 4.	Características clínicas e laboratoriais do grupo com DP (DP ⁺)	30
Tabela 5.	Caraterísticas clínicas, periodontias e laboratoriais dos grupos DAC ⁻ /DP ⁻ , DAC ⁺ /DP ⁻ , DAC ⁻ /DP ⁺ e DAC ⁺ /DP ⁺	32

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

DP	Doença periodontal
DCV	Doença cardiovascular
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MBL	Lectina ligadora de manose
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NOD	Receptores de oligomerização de nucleotídeos
NO	Óxido nítrico
PCR	Proteína C reativa
PRR	Receptores de reconhecimento padrão
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SIRT1	Sirtuína-1
TLRs	Receptores <i>toll-like</i>

Resumo

Caribé PMV. *Influência do tratamento da doença periodontal na sirtuína 1 e na lectina ligadora de manose em indivíduos com doença arterial coronária* [Tese]. São Paulo: Instituto do Coração, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: A premissa da relação entre o processo aterosclerótico da doença arterial coronária e a doença periodontal é o processo imuno-inflamatório, que provoca aumento significativo da concentração sérica de lectina ligadora de manose. Essa proteína é parte da imunidade inata e possui a capacidade de ligar-se aos resíduos de manose comuns a vários patógenos. Estudos em animais também mostraram que o aumento da concentração sérica de sirtuína-1 associou-se com redução da inflamação. Evidências indicam que a sirtuína-1 desempenha um importante papel na proteção vascular e está associada ao envelhecimento. **OBJETIVOS:** Esse estudo analisou a influência do tratamento não cirúrgico da doença periodontal na concentração sérica de lectina ligadora de manose e de sirtuína-1 em pacientes com doença periodontal e doença arterial coronária. **MÉTODOS:** Foram avaliados 78 pacientes, 38 mulheres e 40 homens, média de idade de 58 ± 8 anos, distribuídos em 4 grupos: 20 indivíduos saudáveis (grupo 1), 18 pacientes com doença aterosclerótica e isentos da doença periodontal (grupo 2), 20 pacientes com doença periodontal e isentos de doença arterial coronária (grupo 3) e 20 pacientes com doença aterosclerótica e doença periodontal

(grupo 4). Foi realizada coleta de sangue periférico no início e no final do tratamento da doença periodontal. RESULTADOS: Observou-se uma correlação negativa entre a variação de concentração de lectina ligadora de manose e a concentração de sirtuína-1 ($r = -0,30$; $p = 0,006$). Os pacientes que receberam tratamento para a doença periodontal tiveram aumento da concentração sérica de sirtuína-1 ($1,06 \pm 1,03$ vs. $1,66 \pm 1,64$ ng/mL; $p < 0,001$) e redução da concentração sérica da lectina ligadora de manose ($1099,35 \pm 916,59$ vs. $861,42 \pm 724,82$ ng/mL; $p < 0,001$) quando comparamos os momentos inicial e final do estudo. Observou-se redução na concentração sérica da lectina ligadora de manose e aumento da sirtuína-1 nos grupos 3 e 4. A lectina ligadora de manose reduziu no grupo 3 de $886,27 \pm 906,72$ ng/mL para $689,94 \pm 808,36$ ng/mL ($p = 0,003$) e no grupo 4 de $1.312,43 \pm 898,21$ ng/mL para $1.032,90 \pm 602,52$ ng/mL ($p = 0,010$). A sirtuína-1 aumentou no grupo 3 de $0,80 \pm 1,01$ ng/mL para $1,49 \pm 1,55$ ng/mL ($p = 0,005$) e no grupo 4 de $1,32 \pm 1,00$ ng/mL para $1,82 \pm 1,75$ ng/mL ($p = 0,044$). CONCLUSÃO: O tratamento periodontal, além da redução de processos infecciosos locais, promove a redução da concentração sérica de lectina ligadora de manose e aumento da concentração sérica da sirtuína-1. Porém, estudos prospectivos serão necessários para avaliar o impacto das alterações séricas dessas proteínas como biomarcadores na incidência e no prognóstico da doença arterial coronária.

Descritores: doenças periodontais, aterosclerose, proteína ligadora de manose, sirtuínas, periodontite, inflamação.

Abstract

Caribé PMV. *Influence of treatment of periodontal disease on the sirtuin 1 system and mannose-binding lectin in individuals with coronary artery disease* [thesis]. São Paulo: "Instituto do Coração, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

BACKGROUND: The premise of the relationship between the atherosclerotic process of coronary artery disease and periodontal disease is the immunoinflammatory process, which causes a significant increase in serum concentration of mannose-binding lectin. This protein is part of the innate immunity and has the ability to bind to the mannose residues common to various pathogens. Animal studies also showed that increased serum concentration of sirtuin-1 was associated with reduced inflammation. Evidence indicates that sirtuin-1 plays an important role in vascular protection and is associated with aging. **OBJECTIVES:** This study examined the influence of non-surgical treatment of periodontal disease on the serum concentration of mannose-binding lectin and sirtuin-1 in patients with periodontal disease and coronary artery disease. **METHODS:** Seventy-eight patients, 38 women and 40 men, mean age 58 ± 8 years old, were divided into 4 groups: 20 healthy subjects (group 1), 18 patients with coronary artery disease and without periodontal disease (group 2), 20 patients with periodontal disease and without coronary artery disease (group 3) and 20 patients with coronary artery disease

and periodontal disease (group 4). Peripheral blood samples were collected at the beginning and at the end of the treatment of periodontal disease.

RESULTS: A negative correlation was observed between the concentration of mannose-binding lectin and the concentration of sirtuin-1 ($r = -0.30$; $p = 0.006$).

Patients receiving treatment for periodontal disease had increased serum sirtuin-1 concentration (1.06 ± 1.03 vs. 1.66 ± 1.64 ng/mL, $p < 0.001$) and decreased serum mannose-binding lectin concentration (1099.35 ± 916.59 vs. 861.42 ± 724.82 ng/mL, $p < 0.001$) when we compared the initial and final moments of the study. Reduction in serum concentration of mannose-binding lectin and increase of sirtuin-1 were observed in groups 3 and 4. Mannose-binding lectin reduced in group 3 from 886.27 ± 906.72 ng/mL to 689.94 ± 808 (P = 0.010), and in group 4 from 1312.43 ± 898.21 ng / mL to 1032.90 ± 602.52 ng/mL ($p = 0.010$). Sirtuin-1 increased in group 3 from 0.80 ± 1.01 ng/mL to 1.49 ± 1.55 ng/mL ($p = 0.005$) and in group 4 of 1.32 ± 1.00 ng/mL to 1.82 ± 1.75 ng/mL ($p = 0.044$).

CONCLUSION: The periodontal treatment, in addition to the reduction of local infectious processes, promoted the reduction of serum concentration of mannose-binding lectin and increased serum concentration of sirtuin-1. However, prospective studies will be needed to evaluate the impact of serum changes of these proteins as biomarkers on the incidence and prognosis of coronary artery disease.

Descriptors: periodontal diseases, atherosclerosis, mannose binding protein, sirtuins, periodontitis, inflammation.

INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença periodontal e doença aterosclerótica

A doença periodontal (DP), conhecida também como periodontite, é uma doença inflamatória crônica de alta prevalência que afeta as estruturas de proteção e suporte dos dentes.¹ A DP caracteriza-se clinicamente pela presença de sangramento, edema e reabsorção do tecido ósseo alveolar, resultantes da atividade inflamatória, mediada por bactérias ou endotoxinas e da resposta celular/humoral do hospedeiro, mediada por leucócitos polimorfonucleares, linfócitos, imunoglobulinas e sistema complemento.²

A exposição à placa bacteriana por longos períodos, caracterizando uma má higiene, não é o único fator que pode conduzir à periodontite. Além do acúmulo bacteriano, a destruição tecidual nas lesões periodontais está associada à resposta imune/celular do hospedeiro.³

O acúmulo de bactérias periodonto-patogênicas no sulco gengival constitui o estímulo inicial que desencadeia a resposta inflamatória e os mecanismos de defesa imunitária do hospedeiro. Após reconhecimento dos antígenos e produtos bacterianos lipopolissacarídeo e peptidoglicanos pelos receptores *toll-like* das células residentes do hospedeiro, as várias células de defesa (neutrófilos, linfócitos e macrófagos) são recrutadas e ativadas com produção de mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas e várias enzimas proteolíticas, nomeadamente metaloproteinases, com consequente lesão dos tecidos periodontais.⁴ Se a resposta desencadeada não consegue eliminar ou controlar adequadamente o estímulo microbiano, estabelece-se um processo inflamatório crônico com degradação dos tecidos periodontais, incluindo a destruição dos tecidos ósseos alveolares.⁵

As infecções crônicas às quais o organismo é submetido ao longo da vida, como no caso da doença periodontal, têm sido postuladas como eventos inflamatórios que perpetuam o processo aterosclerótico.⁶ Taylor et al.⁷ realizaram um estudo de intervenção com o objetivo de avaliar se a extração dentária se traduzia em redução dos marcadores sistêmicos de inflamação. Nesse estudo, foram incluídos 67 pacientes com periodontite grave e observou-se que, após 12 semanas da extração dentária completa, houve uma redução significativa da proteína c reativa (PCR), do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1), da contagem de plaquetas e dos leucócitos, sugerindo que a eliminação da periodontite reduziu, no longo prazo, os marcadores de risco inflamatórios e trombóticos, e suportando a hipótese de que o tratamento da DP pode reduzir o risco cardiovascular.

Há evidências de que a natureza infecciosa das doenças periodontais pode produzir a injúria inicial desencadeadora da aterosclerose, ou mesmo provocar o agravamento do processo aterosclerótico pré-existente. Estudos de coorte retrospectivo, transversais e caso-controle, realizados por Mattila et al.,^{8, 9} De Stefano et al.,¹⁰ e Beck et al.¹¹ respectivamente, verificaram que a associação entre as condições bucais e aterosclerótica é consistente em diferentes amostras de populações.

O processo aterosclerótico e a DP interagem entre si através da liberação sistêmica de citocinas específicas pró-inflamatórias, bem como através de enzimas que modulam a iniciação e a progressão da reação inflamatória crônica que se faz presente em ambas as doenças.¹² Além disso, patógenos periodontais foram identificados dentro de lesões ateroscleróticas e trombos isolados de pacientes com infarto do miocárdio.^{13, 14} O LDL-colesterol é um importante fator de risco para aterosclerose, e também está associado a DP.¹⁵ As estatinas, utilizadas para tratar doença arterial coronária, também são ativas para evitar ou reduzir DP.^{16, 17} A

presença da doença periodontal tem relação com o aumento da espessura das camadas íntima-média da carótida, que é um indicador de aterosclerose subclínica ¹⁸, e o tratamento periodontal demonstrou impacto positivo na função endotelial. ¹⁹ A relação da doença periodontal e do infarto do miocárdio demonstrada no estudo PAROKRANK, ²⁰ reforça as evidências da associação entre a doença periodontal e o primeiro infarto do miocárdio. Esse estudo sueco comparou a doença periodontal em 805 pacientes que apresentaram um primeiro infarto do miocárdio com 805 controles. Está bem documentada a correlação existente entre a doença periodontal e a aceleração e/ou auxílio no desenvolvimento do processo aterosclerótico. ^{21, 22, 23, 24, 25} Contudo, mais estudos ainda são necessários para o entendimento do mecanismo fisiopatológico dessa associação. ²⁶

Sabe-se que a aterosclerose é resultado de um processo imuno-inflamatório que tem seu início na disfunção endotelial sofrida pela monocamada de células endoteliais, graças às injúrias como dislipidemia, hipertensão, diabetes e micro-organismos. ^{27 28} A aterosclerose é causada pelo acúmulo de macrófagos que captam colesterol e lipoproteínas de baixa densidade. Esses macrófagos são conhecidos como células espumosas e constituem-se no elemento iniciador da placa de ateroma. ²⁹ A aterosclerose é um processo progressivo crônico, sistêmico, caracterizado por uma resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede arterial, no qual um evento coronário agudo pode ser a primeira manifestação clínica. ³⁰

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de morte em adultos no Brasil, responsáveis por cerca de 20% de todas as mortes em indivíduos acima de 30 anos. ³¹ As manifestações clínicas das cardiopatias coronarianas incluem desde as anginas estáveis e instáveis, o infarto agudo do miocárdio, a insuficiência cardíaca congestiva, até a morte cardíaca súbita. Essas manifestações resultam, mais frequentemente, de aterosclerose nos vasos coronários epicárdicos. Os fatores de

risco convencionais tais como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, tabagismo, obesidade e sedentarismo permanecem importantes na doença arterial coronária (DAC), mas diferenças individuais no perfil imunológico podem modular a intensidade do processo aterosclerótico.³²

A inflamação sistêmica é outro fator de risco cardiovascular bem conhecido. Evidências sugerem que pacientes com níveis mais altos de PCR têm maior risco de sofrerem um infarto agudo do miocárdio ou evento cerebrovascular. Além disso, já foi demonstrado que o uso da aspirina diminui o risco de IAM em quase 55% dos pacientes com níveis elevados de PCR, comparado a apenas 13% naqueles com níveis baixos ou normais de PCR, sugerindo que seus efeitos protetores são mediados, parcialmente, por suas propriedades anti-inflamatórias.³³

O processo inflamatório também desempenha um papel importante na gênese e progressão da aterosclerose.³⁴ Desestabilização de placas ateromatosas na íntima vascular é seguida, em muitas ocasiões, pela ruptura da placa expondo os componentes altamente trombogênicos do endotélio ao sangue, levando aos eventos cardiovasculares. Os principais determinantes da vulnerabilidade da placa ateromatosa são a composição de seus núcleos ateromatosos, a presença de inflamação e o adelgaçamento da capa fibrosa que cobre os seus núcleos.³⁵ Foi demonstrado que a presença de inflamação na placa ateromatosa interfere na formação da capa fibrosa e produz apoptose com degradação da matriz extracelular pela ativação de metaloproteinases. Dessa forma, aumenta o risco de ruptura da placa e conseqüente desenvolvimento de eventos cardiovasculares.³⁶

Já foi demonstrado que pacientes com DP apresentam maiores níveis circulantes de PCR.³⁷ Além disso, pacientes com DP apresentam níveis mais elevados de outros marcadores pró-inflamatórios, como fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas (IL-) 1, 6 e 8.³⁸

Elter et al.³⁹ verificaram melhorias significativas na vasodilatação arterial e redução no nível sérico de IL6 e da PCR, após a realização do tratamento periodontal em 22 adultos com periodontite moderada a importante.

Tonetti et al.⁴⁰ também estudaram a influência do tratamento periodontal na função endotelial. Para isso, incluíram 120 pacientes com periodontite importante. Desses, 61 foram submetidos a tratamento periodontal intensivo e 59 constituíram o grupo controle. A função endotelial foi avaliada medindo o diâmetro da artéria braquial durante o fluxo, estimado por eco-Doppler. Foram dosados os níveis séricos dos biomarcadores inflamatórios (PCR, IL-6) e da coagulação (t-PA, PAI1). Observaram que, 6 meses após tratamento intensivo da DP, os benefícios na saúde oral associaram-se à melhoria da função endotelial.

Sabe-se que a DP pode ter a sua instalação impedida através da resposta imune inata que envolve um amplo espectro de células e fatores solúveis que reconhecem e exercem funções efetoras quando desafiados por invasores.⁴¹ Esse sistema tem a capacidade de detectar micro-organismos através de receptores de reconhecimento padrão (PRR – *pattern recognition receptor*) como os receptores do tipo *toll* (TLRs), presentes em superfícies celulares e dentro de compartimentos endossomais, receptores do tipo NOD (*Nucleotide-binding oligomerization domains-like receptors* - NLRs) circulantes no citoplasma⁴² ou através de moléculas extracelulares circulantes no organismo como defensinas, PCR, e a lectina de ligação de manose (MBL) capaz de ligar-se a antígenos.⁴³

Em alguns casos, essas reações de defesa do hospedeiro podem ser prejudiciais porque também são passíveis de danificar as células e estruturas vizinhas do tecido conjuntivo. Além disso, as reações inflamatórias e imunológicas cuja extensão alcança níveis mais profundos do tecido conjuntivo, além da base do sulco gengival, podem envolver o osso alveolar nesse processo destrutivo. Assim, os

processos de defesa do indivíduo podem, paradoxalmente, responder pela maior parte da lesão tecidual observada na gengivite e na DP.⁴⁴

1.2. Lectina Ligadora de Manose (MBL)

No sistema imunológico dos mamíferos, a imunidade inata é constantemente ativada para manter a integridade do organismo hospedeiro. Numerosos componentes se unem para servir ao propósito de defesa de primeira linha contra patógenos invasores, suporte de cicatrização de feridas,⁴⁵ remodelação de tecidos e angiogênese^{46, 47} e depuração de células apoptóticas ou necróticas.⁴⁸ Os principais componentes do sistema imune compreendem o compartimento celular fagocítico e *natural killer*, produção de anticorpos, citocinas e outros fatores solúveis, além do sistema complemento. A MBL é fundamental para a ativação do sistema complemento. A via da lectina é um ramo que apareceu pela evolução há mais de 565 milhões de anos. Um homólogo da MBL e outros componentes da via da lectina, tais como ficolinas e serina-proteases, foram detectados em ascídias, uma classe de invertebrados marinhos. Assim, a via da MBL foi preservada durante a evolução de vários animais e hominoides.⁴⁹ Devido à importância crucial da via das lectinas na imunidade, a MBL e seus níveis séricos quantitativamente variados e os seus polimorfismos genéticos foram sujeitos a extensos estudos para esclarecer seu potencial papel na mediação ou promoção de várias doenças.

O sistema complemento humano é composto por três vias diferentes: a clássica, a alternativa e a via das lectinas, a mais recentemente descrita.^{50, 51} Sabe-se que a MBL é uma proteína sérica sintetizada no fígado⁵² e que possui a capacidade de ligar-se a resíduos de manose, ou a outros carboidratos comuns a vários patógenos.⁵³ Após essa ligação, ela ativa o sistema complemento pela via das lectinas e media

diretamente a fagocitose. Ao contrário das outras colectinas, a MBL é capaz de ativar o sistema de complemento na ausência de anticorpo.⁵⁴ Baixas concentrações de MBL têm como consequência diminuição da ativação da via das lectinas e do complemento. Dessa forma, alguns estudos têm relacionado essa deficiência à maior susceptibilidade a vários agentes infecciosos.⁵⁵

Importantes patógenos periodontais, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*, também apresentam em suas superfícies celulares polissacarídeos ricos em manose potencialmente capazes de serem ligados à MBL e sofrerem fagocitose. Assim, a MBL promove defesa contra patógenos invasores, mas em níveis elevados ela pode ser prejudicial, ao provocar demasiada inflamação local e sistêmica, através da ativação do sistema complemento, agravando doenças inflamatórias e aumentando o dano tecidual.⁵⁶

Em um estudo de base populacional, através da análise de DNA em 434 nativos americanos aparentemente saudáveis, observou-se que genótipos que codificam para níveis diminuídos de MBL são preditivos de DAC.⁵⁷ No entanto, para aferição da proteína MBL, a avaliação dos níveis séricos também deve ser feita sempre, pois a MBL apresenta níveis séricos variados até em indivíduos que possuem o mesmo genótipo.⁵⁸

Estudo experimental em ratos realizados por Walsh et al.⁵⁹ demonstrou o papel da MBL no dano tissular de isquemia cardíaca. Eles utilizaram ratos selvagens e ratos geneticamente modificados para serem nulos para o gene da MBL (*Knockout*, ou KO para MBL). Induziram uma isquemia cardíaca pela ligação do ramo descendente da artéria coronária anterior esquerda, a qual foi ligada por 30 min e depois liberada. Os resultados demonstraram que, nos camundongos selvagens, a fração de ejeção do ventrículo esquerdo, medida pela ecocardiografia, diminuiu significativamente com o experimento. Nos animais geneticamente modificados a perda da função ventricular

esquerda estava atenuada. Injetando-se a MBL nos ratos *Knockout* houve novamente aumento da disfunção ventricular. Se a MBL era injetada associada com anticorpos contra a MBL, a disfunção tornava-se menor.

Hart et al.⁶⁰ também realizaram estudos experimentais em ratos e demonstraram que animais desprovidos de MBL possuíam melhor resposta para a isquemia intestinal, pois estes ratos não apresentaram infiltração de neutrófilos no intestino e estavam protegidos contra disfunção da permeabilidade intestinal e lesão hepática secundária, medida por alteração nos valores das transaminases. Ainda em ratos, experimentos feitos com oclusão e reperusão da artéria cerebral média, mostraram que os ratos deficientes de MBL apresentaram menor tamanho do infarto, avaliado por ressonância magnética, e menores deficiências neurológicas clínicas, quando comparados com ratos selvagens⁶¹.

Estudos anteriores sobre o papel da MBL na aterogênese em humanos são contraditórios.^{62, 63, 64} Foi demonstrado que a deficiência de MBL pode estar associada com aterosclerose acelerada. Madsen et al.⁶² investigaram os genótipos de MBL em 76 pacientes noruegueses com doença aterosclerótica grave que foram submetidos a revascularização do miocárdio, cirurgia de substituição de válvula coronária, ou ambos. Encontraram que pacientes com deficiência de MBL podem ter um início mais precoce da doença ou um curso mais progressivo da DAC. Limnell et al.⁶³ concluíram que indivíduos com deficiência de MBL possuem mais oclusão cardiovascular. Já o Rugonfalvi-Kiss et al.⁶⁴ observaram que em 123 pacientes que foram submetidos a endarterectomia de carótida e foram acompanhados por eco-dopplergrafia de carótidas, a recorrência de estenose teve associação com altas concentrações de MBL no soro. Berger et al.⁶⁵ estudando pacientes com transplante simultâneo de pâncreas e rim demonstraram que há associação dos níveis de MBL > 400 ng/mL com pior sobrevida do enxerto e levantaram a hipótese de que a MBL contribui para a

patogênese da lesão vascular induzida por inflamação, tanto nos vasos dos órgãos transplantados como nos vasos do indivíduo receptor.

Assim, é provável que a MBL possua um duplo papel na DAC podendo promover e proteger contra inflamação, dependendo do cenário fisiopatológico no interior da parede do vaso e de que um equilíbrio bem ajustado é o que determina se o complemento é uma vantagem ou desvantagem na DAC.⁶⁶

1.3. Sistema das sirtuínas

As sirtuínas são uma classe de proteínas que regulam uma variedade de funções celulares, tais como a integridade do genoma e do metabolismo e a longevidade.⁶⁷ Elas foram descobertas em 1986 quando Ivy et al.⁶⁸ isolaram e identificaram um gene associado ao ciclo de vida das células de levedura. Há sete sirtuínas humanas (SIRT1-7). As sete enzimas diferem em sua localização celular. Encontram-se no citoplasma (SIRT1, SIRT2), no núcleo (SIRT1, SIRT2, SIRT6, SIRT7) e na mitocôndria (SIRT3, SIRT4, SIRT5). A maioria das sirtuínas (SIRT1, SIRT2, SIRT3 e SIRT5) catalisa a deacetilação NAD⁺-dependente de resíduos de lisina das proteínas. A SIRT1 é a sirtuína mais estudada e está envolvida em várias vias metabólicas centrais.⁶⁹

A redução da inflamação é capaz de causar o aumento da expressão do sistema das sirtuínas. Dessa forma, vários estudos em várias espécies de animais mostraram associação do sistema das sirtuínas à menor incidência de doenças relacionadas com a idade, tais como a obesidade, doenças cardíacas, neurológicas e câncer.⁷⁰

Segundo Moschen et al.⁷¹ a perda de peso que aumenta a expressão da SIRT1 é, provavelmente, uma consequência da redução da inflamação. Dados de vários estudos têm sugerido que a disfunção metabólica na obesidade está associada com

inflamação do tecido adiposo.⁷² Mansur et al.⁷³ demonstraram que há aumento dos níveis séricos da SIRT1 em indivíduos normais submetidos à restrição calórica e, também, após administração de resveratrol.

Já se conhece que a doença periodontal influencia nas dislipidemias, pois ela resulta no aumento do fluxo de citocinas inflamatórias levando a uma maior mobilização de lipídios do tecido hepático e adiposo.⁷⁴ Vários estudos demonstraram que os indivíduos com doença periodontal têm níveis de soro superiores de colesterol total, colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e triglicérides quando comparados a sujeitos periodontalmente saudáveis.^{75 76} Além disso, os pacientes que foram diagnosticados com hiperlipidemia têm valores significativamente maiores de parâmetros clínicos de doenças periodontais que os indivíduos com status metabólico normal.⁷⁷

A SIRT1 se expressa abundantemente na parede vascular.⁷⁸ No sistema cardiovascular, a SIRT1 protege o endotélio vascular pelo aumento da capacidade regenerativa e favorece a vasodilatação.^{79 80}

O excesso de inflamação é deletério. Estudos têm mostrado que um dos fatores fundamentais das condições inflamatórias é o estresse oxidativo, sendo este o coadjuvante responsável pelo desencadeamento de doenças essencialmente inflamatórias como periodontite e aterosclerose.^{81, 82, 83} Sabe-se que o acometimento pela PD e DAC aumenta exponencialmente com a idade. Segundo a OMS, a forma mais grave da doença periodontal afeta entre 10 a 20% das pessoas de todo o mundo⁸⁴ e a prevalência de suas formas leve e moderadas podem chegar a até 85% na população mais idosa.⁸⁵ Da mesma forma, as doenças cardiovasculares são altamente prevalentes nos idosos.⁸⁶ O efeito do envelhecimento sobre o sistema vascular é considerado um mecanismo para o envolvimento na disfunção vascular.⁸⁷ Evidências mostram que o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio

(ROS), pelo menos em parte devido a um aumento da atividade de NADPH-oxidases, ^{88, 89, 90, 91} leva à disfunção endotelial no processo de envelhecimento, tanto em animais de laboratório ^{92, 93, 94, 95, 96} como em seres humanos ⁹⁷ e que o stress oxidativo promove o desenvolvimento da doença arterial coronária e acidente vascular cerebral em pacientes idosos.

Durante a evolução da DP, ROS e citocinas inflamatórias são liberados a partir de células do sistema imunológico para eliminar patógenos periodontais.⁹⁸ Aumentos sistêmicos na ROS são reconhecidos como causadores de estresse oxidativo e determinantes na progressão da periodontite.⁹⁹ Uma das consequências do aumento do estresse oxidativo no envelhecimento é uma inativação funcional de óxido nítrico por altas concentrações de oxigênio, resultando em significativa disfunção. Em particular, a biodisponibilidade diminuída de óxido nítrico, devido à idade, conduz ao estresse oxidativo na circulação coronária e em outros leitos vasculares.¹⁰⁰

Evidências também indicam que SIRT1 desempenha um importante papel na proteção contra doenças vasculares relacionadas à idade, incluindo inibição da formação de neoíntima¹⁰¹ e na proteção contra a aterosclerose.¹⁰² Muitos estudos têm sido realizados buscando elucidar esse papel da SIRT1 no envelhecimento de células endoteliais.^{103, 104} Zu et al.¹⁰⁵ estabeleceram um modelo em senescência, *in vitro*, por cultura prolongada de células endoteliais primárias isoladas a partir da aorta de porco; eles submeteram as células jovens à senescência durante um mês, e perceberam que essas células jovens demonstraram tanto a expressão do RNAm, quanto da proteína SIRT1 progressivamente diminuída. Comprovando que a expressão reduzida da SIRT1 facilita a ocorrência da senescência em células endoteliais.

A SIRT1, do mesmo modo, tem atuação nos ligamentos periodontais. Lee et al.¹⁰⁶ identificaram o papel da SIRT1 nas células do ligamento periodontal humano,

medindo os níveis de proteína mRNA e proteína SIRT1, durante a identificação do processo de formação das células do ligamento periodontal humano (*in vitro*). E investigaram os efeitos da superexpressão e subexpressão da SIRT1 durante a diferenciação das células do ligamento periodontal humano e os mecanismos de sinalização envolvidos. Eles concluíram que a SIRT1 é um potente regulador da diferenciação das células do ligamento periodontal humano e pode ter implicações clínicas na regeneração óssea periodontal.

Em nosso estudo, o tratamento periodontal tem como foco a eliminação de microrganismos bucais patológicos evitando exacerbação de processos inflamatórios, visando assim o aumento nos níveis das SIRT1. Dessa forma, o resultado do presente estudo também pode contribuir na elucidação dos possíveis mecanismos que envolvem a associação entre a DP e a DAC,^{107, 108, 109, 110, 111} visto que analisamos mecanismos imunológicos e bioquímicos que envolvem ambas as doenças.

OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo primário

Avaliar a influência do tratamento da doença periodontal nas concentrações séricas de Sirt1 e da MBL em indivíduos com ou sem DAC.

2.2. Objetivos secundários

- 1) Analisar as correlações entre as variações das concentrações séricas de SIRT1 e da MBL com os marcadores metabólicos e inflamatórios antes e após o tratamento da doença periodontal.
- 2) Analisar as correlações entre as variações das concentrações séricas de SIRT1 e da MBL com os marcadores metabólicos e inflamatórios em indivíduos com ou sem DP e com ou sem DAC.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo prospectivo realizado no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), em parceria com a Disciplina de Periodontia do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), no período de outubro de 2016 a outubro de 2018. Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), CAAE: 55556116.0.0000.0068. Os pacientes receberam informações claras e suficientes sobre a natureza e os objetivos deste estudo. Eles foram incluídos no estudo após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE 1).

Foram avaliados 78 pacientes com idade de 45 a 79 anos, 38 mulheres e 40 homens. Distribuídos em quatro grupos, segundo a presença ou ausência de DP (DP⁻ ou DP⁺) e DAC (DAC⁻ ou DAC⁺). O Grupo Controle (DAC⁻/DP⁻) foi composto por 20 indivíduos saudáveis isentos de ambas as doenças; Grupo (DAC⁺/DP⁻): 18 pacientes com doença arterial coronária e isentos da doença periodontal; Grupo (DAC⁺/DP⁺): 20 pacientes com doença arterial coronária e doença periodontal crônica; e Grupo (DAC⁻/DP⁺): 20 pacientes sem doença arterial coronária e com doença periodontal crônica.

Os critérios de inclusão para DP foram: presença de pelo menos 15 dentes e diagnóstico clínico da DP. O critério usado para o grupo de indivíduos sem DP foi a ausência da doença confirmada após realização de exame clínico periodontal no início e no final do protocolo. Foi definido como saúde periodontal, um periodonto sem perda de inserção, com profundidade de sondagem de até 3 mm, apresentando sangramento à sondagem em menos de 10% dos sítios e sem perda óssea radiográfica.¹¹²

O diagnóstico de PD foi confirmado pela presença de no mínimo 6 dentes com pelo menos um sítio interproximal, não contíguo, com Profundidade de Sondagem e Nível Clínico de Inserção ≥ 5 mm, bem como 30% dos sítios com Profundidade de Sondagem e Nível Clínico de Inserção ≥ 4 mm e sangramento à sondagem. ¹¹³ Periodontite classificada em Estágio IV Grau B. ¹¹⁴

O diagnóstico da DAC foi confirmado pela presença de lesão coronária $\geq 70\%$ pela cinecoronariografia ou pacientes previamente submetidos à revascularização coronária percutânea ou cirúrgica do miocárdio. Os indivíduos estavam assintomáticos ou com angina estável em classe funcional I/II da classificação da Canadian Cardiovascular Society. A ausência de DAC foi considerada por uma avaliação cardiológica clínica, radiografia de tórax e eletrocardiograma normais.

Os critérios de exclusão do estudo foram: diabéticos não controlados, dialíticos, fumantes, portadores de HIV e Hepatites B e C. Também foram excluídos do estudo indivíduos gestantes, edêntulos, presença de aparelho ortodôntico, pacientes que faziam uso de medicamentos específicos conhecidos por afetar os tecidos periodontais, pacientes que tenham sido submetidos a tratamento periodontal prévio (mínimo de 6 meses), pacientes em uso de anti-inflamatório e corticoides, pacientes alérgicos aos antibióticos prescritos neste protocolo (amoxicilina e metronidazol).

3.1. Avaliação clínica e terapia periodontal

Os exames clínico oral e periodontal foram realizados em consultório da Disciplina de Periodontia do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, sob condições adequadas, seguindo-se as normas de biossegurança e utilização de equipamento de proteção individual (EPI). Os instrumentais utilizados na determinação das medidas foram o espelho clínico e a

sonda periodontal modelo Carolina do Norte (modelo PCPUNC15R, Hu-Friedy, Chicago- USA).

Foi realizado o tratamento periodontal não cirúrgico que incluiu educação de higiene bucal, raspagem, alisamento e polimento coronoradicular (RAR). Foram avaliados 6 sítios em cada dente (faces mésiolingual, lingual, distolingual, mésovestibular, vestibular e distovestibular). A raspagem e alisamento radicular foram realizados por meio de dispositivos mecânicos - instrumentos manuais e ultrassom. O tratamento foi com anestesia local, lidocaína a 3% com vasoconstrictor, para profundidade de sondagem ≥ 5 milímetros. O objetivo de cada sessão foi alcançar uma superfície lisa, desprovida de biofilme e cálculo.

Os seguintes parâmetros clínicos foram registrados:

1. Profundidade clínica de sondagem (PCS): distância (mm) compreendida entre a margem gengival e o fundo do sulco gengival ou da bolsa periodontal.
2. Distância da linha esmalte-cimento à margem gengival (LEC-MG): distância (mm) que vai da linha esmalte-cimento à margem gengival. Se a LEC estivesse localizada apicalmente à margem gengival, o parâmetro receberia um valor negativo.
3. Nível clínico de inserção (NCI): é o valor correspondente à soma dos valores de PCS e LEC-MG.
4. Índice de placa ¹¹⁵ : Indica a presença de placa bacteriana nas faces mesial, distal, vestibular e lingual.
5. Sangramento à sondagem ¹¹⁶ : presença ou ausência de sangramento pós-sondagem.

Os pacientes foram acompanhados periodicamente até apresentarem sinais clínicos de melhora significativa da saúde periodontal e receberam instrução sobre a técnica de escovação e utilização de dispositivos de higiene interproximal. Este

protocolo de tratamento associou também o tratamento medicamentoso: os antibióticos metronidazol (1,2 g / d / 14 dias) e amoxicilina (1,5 g / d / 14 dias). A prescrição de antibiótico não é usada rotineiramente no tratamento mecânico, porém optamos por fazê-la após resultados de artigos recentes terem demonstrado a sua eficácia no auxílio a depleção da DP.^{117, 118, 119}

A higiene oral foi controlada a cada consulta e instruções de higiene foram reforçadas em cada encontro. A exodontia foi realizada nas raízes condenadas que estivessem provocando processo inflamatório.

A calibração do examinador teve o objetivo de estabelecer consistência e obter a confiança dos resultados nos exames periodontais. Após a realização de dois exames periodontais em 10 indivíduos com intervalo de uma semana, o resultado foi submetido ao teste estatístico de correlação intraclasse.

A concordância intra-examinador da variável Nível da Inserção Clínica foi verificada pelo exame de 1074 sítios de 8 pacientes, em 2 exames com intervalo de 2 semanas. A reprodutibilidade foi avaliada por meio do coeficiente de correlação intraclasse (Tabela 1).

Observou-se uma correlação altamente significativa entre os dois exames [(R = 0,95 (IC 95%: 0,94 – 0,96; p< 0,001)]. De acordo com Evans¹²⁰ a interpretação da força da correlação do intervalo entre 0.80 e 1.0 é considerada forte.

Tabela 1. Coeficiente de Correlação Intraclasse do nível da inserção clínica. Modelo de efeitos mistos bidirecionais onde os efeitos das pessoas são aleatórios e os efeitos das medidas são fixos

	Correlação Intraclasse	Intervalo de Confiança a 95%		Teste F			
		Limite Inferior	Limite Superior	Value	df1	df2	Sig
Medidas Únicas	,949 ^b	,943	,955	38,396	1073	1073	,000
Medidas Médias	,974 ^c	,971	,977	38,396	1073	1073	,000

a. Coeficientes de correlação intraclasse tipo C usando uma definição de consistência - a variância entre medidas é excluída da variância do denominador.

b. O estimador é o mesmo, quer o efeito de interação esteja presente ou não.

c. Esta estimativa é calculada assumindo que o efeito de interação está ausente, porque não é estimável de outra forma.

3.2. Análises laboratoriais

Uma amostra de 10 ml de sangue periférico de veia cubital mediana foi coletada no início e no final do estudo após jejum de 8-12 horas. A amostra de sangue foi acondicionada em tubo de coleta hematológico, contendo ácido etileno diaminotetracético tri-potássico (EDTA K3), para posteriores análises laboratoriais. Houve separação do soro com centrifugação de 20 min e armazenamento a - 80 ° C.

As variáveis bioquímicas analisadas foram: triglicérides, colesterol total, HDL-colesterol, glicose, proteína C reativa, MBL e SIRT1. A glicose plasmática, triglicerídeos e HDL-colesterol foram obtidos por meio de método comercial de calorimetria-enzimática. O valor do LDL-colesterol foi calculado pela equação de Friedwald. As medidas foram realizadas no Dimension RxL (Siemens Healthcare Diagnostic Inc., Newark, DE, USA) com reagentes dedicados. A determinação da proteína C reativa ultrasensível foi realizada por meio de imunonefelometria com reagentes dedicados no equipamento BN-II da marca Siemens Healthcare (Marburg, Hessen, Alemanha).

3.2.1. Determinação da concentração sérica de MBL

Os níveis séricos de MBL foram determinados pelo método ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) utilizando o anticorpo monoclonal anti-MBL HYB 131-01 (BioPorto Diagnostics A / S, Copenhaga, Dinamarca).

As amostras de soro dos pacientes, foram previamente diluídas a 1:400 com tampão de diluição. Adicionou-se em cada cavidade de reação da microplaca, 50 µl dos 7 calibradores com diferentes concentrações de MBL humana (0,156 a 10 ng/ml) em duplicata e 50 µl do branco (tampão de diluição sem amostra) e 50 µl das diluições dos soros dos pacientes. Foi realizada incubação por 2 horas à temperatura ambiente, período no qual a MBL presente na amostra liga-se aos anticorpos monoclonais anti-MBL adsorvidos na placa. Foram realizadas 4 lavagens da placa, com o tampão de lavagem específico, para a retirada do material em excesso, evitando ligações inespecíficas. Adicionou-se à reação 100 µl de anticorpo monoclonal anti-MBL biotilado e incubou-se novamente por 2 horas à temperatura ambiente. Esse anticorpo de detecção, ou anticorpo secundário, liga-se aos oligômeros de MBL através de sítio de ligação com carboidratos que não estão sendo utilizados na ligação com o anticorpo primário.

Realizaram-se 4 novas lavagens da placa, para a retirada dos anticorpos não ligados a MBL, e adicionou-se à reação 100 µl de estreptavidina conjugada com HRP (*horseradish peroxidase*). Esta reação ocorre em 2 horas à temperatura ambiente. Durante este período ocorre a formação de um complexo com o anticorpo secundário. O conjugado que não se ligou foi removido por 4 lavagens com tampão específico. Na seqüência, acrescentou-se o substrato cromógeno tetrametilbenzidina fornecedor de hidrogênio para a reação do substrato peróxido de a peroxidase, o qual gera um

produto colorido (azul). Esta reação foi realizada em exatos 30 minutos, protegida da luz. Adicionou-se, então, 100 µl de uma solução de bloqueio de reação, a qual pela alteração da coloração (para amarelo) das soluções, indica que a reação enzimática foi bloqueada.

A intensidade de cor foi aferida em um leitor de ELISA (do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) a 450 nm Multiskan FC (Thermo Scientific - USA). A absorbância obtida é proporcional à concentração de oligômeros de MBL presentes na amostra. A partir das leituras da absorbância dos calibradores, determinou-se uma curva padrão para o cálculo dos valores séricos de MBL.

Concentração de MBL (ng/ml) = Concentração da MBL x Diluição da amostra (x400)

3.2.2. Determinação da concentração sérica de SIRT1

As concentrações de Sirt1 foram determinadas utilizando um kit ELISA (Uscn Life Science, Wuhan, Hubei, China). As amostras de Sirt1, antes e após as intervenções, foram analisadas em duplicata e na mesma placa de ELISA e utilizando o leitor de placas Multiscan FC (Thermo Scientific - USA), com um coeficiente de variação de 12%, de acordo com as instruções do fabricante. A reação colorimétrica é lida em espectrofotômetro, sendo a intensidade da cor proporcional à quantidade de SIRT1 presentes nas amostras.

3.3. Análise estatística

O cálculo do tamanho amostral foi feito pela diferença entre os níveis séricos de SIRT1, pré e pós-tratamento periodontal. A diferença entre as médias para o grupo

controle foi de 1 mg e desvio padrão de 1 mg e para os grupos com intervenção foi de 2 mg com desvio padrão de 1 mg. O poder de teste foi de $\beta = 0,90$ e $\alpha = 0,05$. O número estimado da amostra foi de 20 indivíduos para cada grupo (Figura 1). Os valores esperados tiveram como base estudo prévio realizado em nosso serviço em indivíduos normais⁷³. O teste do Chi-quadrado (χ^2) foi usado para variáveis categóricas.

As correlações entre as variáveis do estudo foram realizadas pelo teste de correlação de Spearman. O teste t de Student pareado foi usado para análise intragrupos entre os valores iniciais e finais do protocolo. O teste t de Student não pareado foi usado para comparação entre grupos. O teste t de Student foi realizado para variáveis com distribuição normal, que foi verificada pela análise da igualdade de variâncias (Folded F method). Dependendo do resultado desta análise, utilizou-se o método Pooled (variâncias com $p \geq 0,05$) ou o método de Satterthwaite (variâncias com $p < 0,05$). O programa estatístico usado foi o SAS (versão 9.2, Institute, Inc., Cary, NC).

The SAS System

The POWER Procedure
Overall F Test for One-Way ANOVA

Fixed Scenario Elements	
Method	Exact
Group Means	1 2 2 2
Standard Deviation	1
Sample Size Per Group	20
Alpha	0.05

Computed Power	
Power	
	0.902

Figura 1. Cálculo do tamanho amostral. Diferença das médias da concentração sérica da Sirt1 antes e após as intervenções. Fonte: Mansur et al.⁷³

RESULTADOS



4. RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 88 indivíduos. Destes, 8 não continuaram por perderem o segmento e 2 foram excluídos por estarem fazendo diálise. O tempo de segmento do estudo foi de $80,4 \pm 63,3$ dias. Os valores de idade, IMC e exames laboratoriais dos 78 pacientes encontram-se na Tabela 2. Dos 78 pacientes que participaram da pesquisa 40 (51%) eram do sexo masculino.

Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais dos 78 participantes da pesquisa

VARIÁVEIS		INICIAL (N=78)	FINAL (N=78)	P
Laboratorial	Idade (anos)		58 ± 8	
	IMC (Kg/m ²)		28 ± 5	
	Sexo	M = 40(51%) / F = 38 (49%)		
	Colesterol Total (mg/dL)	187,03 ± 53,4	176,60 ± 55,96	0,003
	HDL – c (mg/dL)	52,31 ± 17,32	51,63 ± 15,18	0,393
	LDL – c (mg/dL)	106,59 ± 46,33	101,59 ± 46,76	0,113
	Não-HDL c (mg/dL)	154,82 ± 188,73	125,49 ± 52,17	0,144
	Triglicérides (mg/dL)	146,62 ± 92,62	122,77 ± 72,87	0,002
	Glicose (mg/dL)	125,36 ± 60,36	115,72 ± 37,18	0,010
	PCR (mg/L)	5,00 ± 8,20	2,95 ± 3,74	0,018
Periodontal	MBL (ng/mL)	899,84 ± 782,76	905,47 ± 754,56	0,929
	SIRT 1 (ng/mL)	0,92 ± 1,01	1,30 ± 1,60	0,001
		INICIAL (N=40)	FINAL (N=40)	P
	Índice de Placa (%)	63,96 ± 5,74	37,79 ± 10,50	<0,001
	Sangramento à sondagem (%)	34,20 ± 6,90	16,94 ± 5,51	<0,001
Nível clínico de inserção (mm)	5,29 ± 0,73	4,49 ± 0,78	<0,001	
Profundidade de sondagem (mm)	5,27 ± 0,76	3,26 ± 0,69	<0,001	

Abreviações: IMC = índice de massa corpórea; HLD – c = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL – c = colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL – c = colesterol não lipoproteína de alta densidade; PCR = Proteína C Reativa ultrasensível; SIRT1= Sirtuína 1; MBL = Lectina Ligadora de Manose.

Nos 78 indivíduos estudados, a SIRT1 e MBL apresentaram respectivamente concentração média de 0,92 ng/mL e 899,8 ng/mL no início do protocolo e de 1,30 ng/mL e 905,5 ng/mL, ao final do protocolo.

Observou-se uma correlação negativa entre a variação de concentração de MLB e a concentração de SIRT1 ($r = -0,30$; $p = 0,006$). Observou-se também uma

correlação positiva entre os valores das variações das concentrações de MBL e as variações do colesterol total ($r = 0.30$ e $p = 0.006$), as variações do não-HDL ($r = 0.27$ e $p = 0,014$) e as variações do LDL ($r = 0.25$ e $p = 0,024$). Por outro lado, não se observou correlação entre a variação das concentrações de SIRT1 e os marcadores metabólicos (colesterol total, HDL, LDL, Não-HDL, Triglicérides, Glicose e PCR).

Observou-se no grupo sem DP (DP⁻) diferença estatisticamente significativa nas variáveis glicose ($126,21 \pm 56,12$ vs. $114,66 \pm 32,72$ mg/dL; $p = 0,025$) e triglicerídeos ($155,42 \pm 105,71$ vs. $128,42 \pm 80,51$; $p = 0,016$), quando comparados os momentos iniciais e finais do protocolo (Tabela 3). Nesse grupo, que não houve intervenção terapêutica para DP, observou-se aumento da concentração de MBL ($p = 0,014$) no momento final do estudo. Não se observou alterações significativas entre os momentos inicial e final do grupo DP⁻ para os valores de SIRT1 ($p = 0,324$).

Tabela 3. Características clínicas e laboratoriais do grupo sem DP (DP⁻)

		DP ⁻ (=38)		
VARIÁVEIS	INICIAL (N=38)	FINAL (N=38)		p
	Idade (anos)		59,1 ± 9,4	
	IMC (Kg/m ²)		28,5 ± 6,6	
Laboratorial	Colesterol Total (mg/dL)	182,55 ± 55,11	177,47 ± 49,46	0,359
	HDL – c (mg/dL)	52,55 ± 17,82	52,71 ± 14,98	0,903
	LDL – c (mg/dL)	101,066 ± 48,29	100,21 ± 48,93	0,764
	Não-HDL c (mg/dL)	171,26 ± 266,94	125,29 ± 56,07	0,266
	Triglicérides (mg/dL)	155,42 ± 105,71	128,42 ± 80,51	0,016
	Glicose (mg/dL)	126,21 ± 56,12	114,66 ± 32,72	0,025
	PCR (mg/L)	3,89 ± 7,23	3,49 ± 4,45	0,693
	MBL (ng/mL)	689,82 ± 548,82	951,84 ± 791,71	0,014
	SIRT1 (ng/mL)	0,77 ± 0,98	0,92 ± 1,49	0,324

Abreviações: IMC = índice de massa corpórea; HLD – c = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL – c = colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL – c = colesterol não lipoproteína de alta densidade; PCR = Proteína C Reativa ultrasensível; SIRT1= Sirtuína 1; MBL = Lectina Ligadora de Manose.

No grupo com DP (DP⁺) observou-se aumento da concentração sérica de SIRT1 (1,06 ± 1,03 vs. 1,66 ± 1,64; $p < 0,001$) e redução da concentração sérica da MBL (1099,35 ± 916,59 vs. 861,42 ± 724,82; $p < 0,001$) quando comparamos os momentos inicial e final do tratamento periodontal (Figura 2).

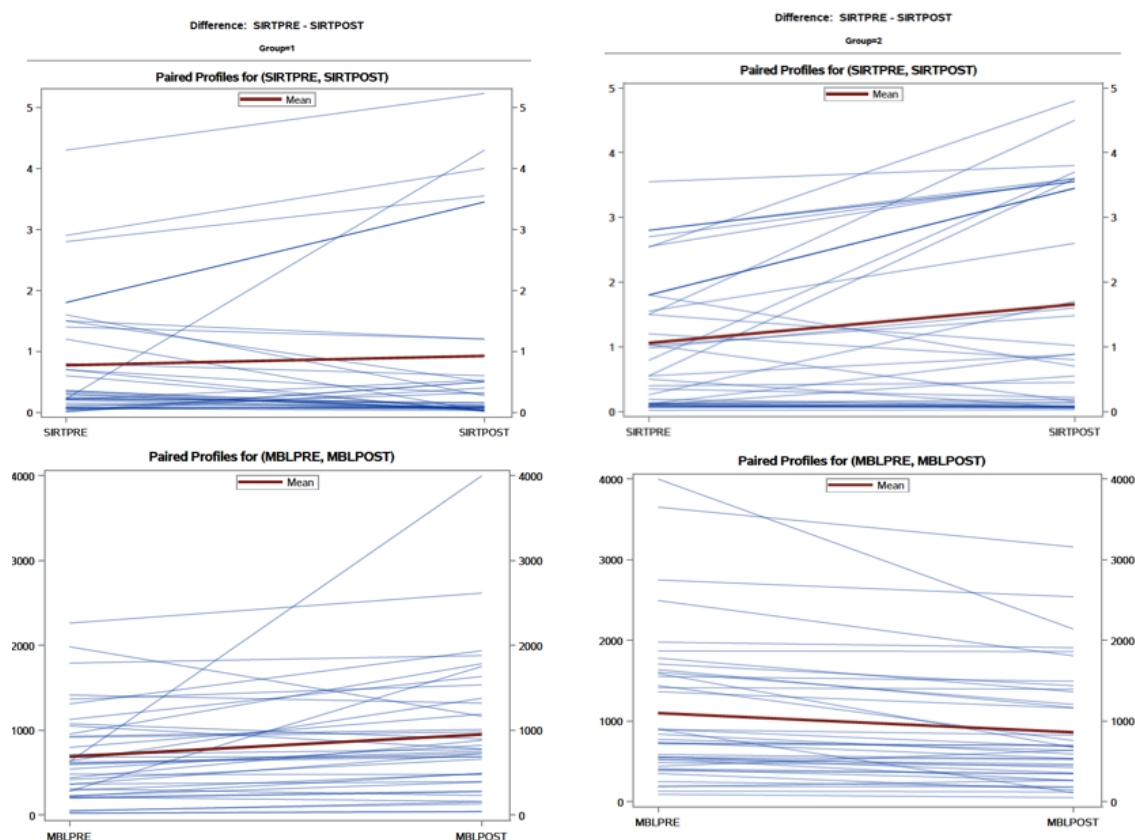


Figura 2. Concentrações séricas de SIRT1 e MBL nos momentos inicial e final do estudo dos grupos sem DP (DP⁻) (figuras à esquerda) e com DP (DP⁺) (figuras à direita)

Observou-se também no grupo DP⁺ redução significativa da concentração sérica de colesterol total (191,28 ± 52,14 vs. 175,78 ± 53,17; $p = 0,001$), LDL (111,28 ± 44,48 vs. 102,90 ± 45,19; $p = 0,044$), não-HDL (139,20 ± 47,02 vs. 125,68 ± 48,90; $p = 0,003$), triglicérides (138,25 ± 78,66 vs. 117,40 ± 65,38; $p = 0,048$) e PCR (6,05 ± 8,99 vs. 2,44 ± 2,89; $p = 0,009$) (Tabela 4). Nesses indivíduos observou-se correlação negativa entre os valores de MBL e PCR ($r = -0,418$; $p = 0,009$).

Tabela 4. Características clínicas e laboratoriais do grupo com DP (DP⁺)

VARIÁVEIS	DP ⁺ (=40)		p
	INICIAL (N=40)	FINAL (N=40)	
Idade (anos)		58,20±7,34	
IMC (Kg/m ²)		27,60±3,95	
Laboratorial			
Colesterol Total (mg/dL)	191,28 ± 52,14	175,78 ± 53,17	0,001
HDL – c (mg/dL)	52,08 ± 17,05	50,60 ± 15,49	0,124
LDL – c (mg/dL)	111,28 ± 44,48	102,90 ± 45,19	0,044
Não-HDL - c (mg/dL)	139,20 ± 47,02	125,68 ± 48,90	0,003
Triglicérides (mg/dL)	138,25 ± 78,66	117,40 ± 65,38	0,048
Glicose (mg/dL)	124,55 ± 64,83	116,73 ± 41,37	0,159
PCR (mg/L)	6,05 ± 8,99	2,44 ± 2,89	0,009
MBL (ng/mL)	1099,35 ± 916,59	861,42 ± 724,82	<0,001
SIRT1 (ng/mL)	1,06 ± 1,03	1,66 ± 1,64	<0,001
Periodontal			
Índice de Placa (%)	63,96 ± 5,74	37,79 ± 10,50	<0,001
Sangramento à sondagem (%)	34,20 ± 6,90	16,94 ± 5,51	<0,001
Nível clínico de inserção (mm)	5,29 ± 0,73	4,49 ± 0,78	<0,001
Profundidade de sondagem (mm)	5,27 ± 0,76	3,26 ± 0,69	<0,001

Abreviações: IMC = índice de massa corpórea; HLD – c = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL – c = colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL – c = colesterol não lipoproteína de alta densidade; PCR = Proteína C Reativa ultrasensível; SIRT1= Sirtuína 1; MBL = Lectina Ligadora de Manose.

As médias e desvios padrões das variáveis idade, IMC e exames laboratoriais para os grupos DAC⁻/DP⁻, DAC⁺/DP⁻, DAC⁻/DP⁺ e DAC⁺/DP⁺ encontram-se na Tabela 5.

VARIÁVEIS	DAC-/PD-			DAC+/PD-			DAC-/PD+			DAC+/PD+		
	INICIAL (N=20)	FINAL (N=20)	p-value	INICIAL (N=18)	FINAL (N=18)	p-value	INICIAL (N=20)	FINAL (N=20)	p-value	INICIAL (N=20)	FINAL (N=20)	p-value
Idade (anos)		56,5 ± 6,7			62,0 ± 11,1			54,2 ± 4,8			62,3 ± 7,3	
IMC (kg/m ²)		27,8 ± 6,7			29,3 ± 6,5			27,3 ± 4,1			27,9 ± 3,9	
Colesterol Total (mg/dL)	204,45 ± 57,39	199,05 ± 70,61	0,453	158,22 ± 41,7	153,50 ± 31,1	0,595	207,00 ± 31,93	201,35 ± 33,31	0,243	175,55 ± 63,57	150,20 ± 57,60	0,001
HDL - c (mg/dL)	60,20 ± 18,21	58,05 ± 14,55	0,222	44,01 ± 13,25	46,78 ± 13,25	0,151	59,15 ± 14,22	57,25 ± 13,27	0,191	45,00 ± 17,01	43,95 ± 14,94	0,420
LDL - c (mg/dL)	118,75 ± 50,89	117,40 ± 58,53	0,847	82,67 ± 38,15	81,11 ± 25,47	0,821	123,05 ± 29,82	122,25 ± 32,54	0,860	99,50 ± 53,67	83,55 ± 48,42	0,021
Não-HDL c (mg/dL)	222,65 ± 362,49	141,00 ± 69,25	0,302	114,17 ± 40,89	107,83 ± 29,47	0,437	147,85 ± 28,17	144,10 ± 29,73	0,439	130,55 ± 59,90	107,25 ± 57,52	0,002
Triglicérides (mg/dL)	146,20 ± 114,69	119,00 ± 79,90	0,126	165,67 ± 96,98	138,89 ± 82,17	0,054	123,45 ± 58,66	105,85 ± 58,12	0,059	153,05 ± 93,80	128,95 ± 71,53	0,214
Glicose (mg/dL)	104,10 ± 25,28	96,60 ± 14,23	0,134	150,78 ± 70,19	134,72 ± 35,98	0,092	98,25 ± 10,36	100,70 ± 10,47	0,239	150,85 ± 84,04	132,75 ± 53,50	0,096
PCR (mg/L)	3,95 ± 4,69	3,53 ± 4,40	0,420	3,83 ± 9,45	3,45 ± 4,63	0,857	5,69 ± 8,01	2,04 ± 2,60	0,043	6,40 ± 10,08	2,85 ± 3,17	0,097
SIRT 1 (ng/mL)	0,46 ± 0,47*	0,21 ± 0,29	0,022	1,12 ± 1,26	1,72 ± 1,87	0,044	0,80 ± 1,01	1,49 ± 1,55	0,005	1,32 ± 1,00*	1,82 ± 1,75	0,044
MBL (ng/mL)	509,04 ± 397,13†	921,98 ± 923,91	0,028	890,69 ± 630,98	985,02 ± 638,74	0,278	886,27 ± 906,72	689,94 ± 808,36	0,003	1312,43 ± 898,21†	1032,90 ± 602,52	0,010
VARIÁVEIS PERIODONTIAS												
Índice de Placa (%)								63,29 ± 6,40			38,79 ± 10,48	
Sangramento à sondagem (%)								35,17 ± 8,40			18,21 ± 5,36	
Nível clínico de inserção (mm)								5,66 ± 0,62			4,68 ± 0,77	
Profundidade de sondagem (mm)								5,54 ± 0,67			3,26 ± 0,74	

Tabela 5. Características clínicas, periodontais e laboratoriais dos grupos DAC⁻/DP⁻, DAC⁺/DP⁻, DAC⁻/DP⁺ e DAC⁺/DP⁺

* p < 0,006: SIRT1 (DAC⁻DP⁻ vs. DAC⁺/DP⁺)

† p < 0,001: MBL (DAC⁻DP⁻ vs. DAC⁺/DP⁺)

Abreviações: IMC = índice de massa corpórea; HDL - c = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL - c = colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL - c = colesterol não lipoproteína de alta densidade; PCR = Proteína C Reativa ultrasensível; SIRT 1 = Sirtuína 1; MBL = Lectina Ligadora de Manose.

Observou-se no grupo controle (DAC⁻/DP⁻) redução na concentração sérica de SIRT1 ($0,46 \pm 0,47$ vs. $0,21 \pm 0,29$; $p= 0,022$) e aumento na concentração sérica de MBL ($509,04 \pm 397,13$ vs. $921,98 \pm 923,91$; $p= 0,028$), quando analisados os momentos final e inicial do estudo.

No grupo DAC⁺/DP⁻ observou-se um aumento da concentração sérica de SIRT1 ($1,12 \pm 1,26$ vs. $1,72 \pm 1,87$; $p= 0,044$) e dos triglicérides ($165,67 \pm 96,98$ vs. $138,89 \pm 82,17$; $p= 0,054$). Não houve diferença entre os valores dos momentos iniciais e finais do estudo para a MBL.

No grupo DAC⁻/DP⁺ observou-se redução na concentração sérica de PCR ($5,69 \pm 8,01$ vs. $2,04 \pm 2,60$; $p= 0,043$) e de MBL ($886,27 \pm 906,72$ vs. $689,94 \pm 808,36$; $p= 0,002$) e um aumento nos valores de SIRT1 ($0,80 \pm 1,01$ vs. $1,49 \pm 1,55$; $p= 0,005$).

Observou-se no grupo DAC⁺/DP⁺ uma redução nos valores de MBL ($1312,43 \pm 898,21$ vs. $1032,90 \pm 602,52$; $p= 0,010$), colesterol total ($175,55 \pm 63,57$ vs. $150,20 \pm 57,60$; $p= 0,001$), LDL ($99,50 \pm 53,67$ vs. $83,55 \pm 48,42$; $p= 0,021$) e não-HDL ($130,55 \pm 59,90$ vs. $107,25 \pm 57,52$; $p= 0,002$), e um aumento na concentração de SIRT1 ($p= 0,044$) quando comparados nos momentos inicial e final do estudo.

As variações das concentrações séricas de SIRT1 e MBL nos momentos inicial e final do estudo dos grupos DAC⁻/DP⁻, DAC⁺/DP⁻, DAC⁻/DP⁺ e DAC⁺/DP⁺ encontram-se na Figura 3.

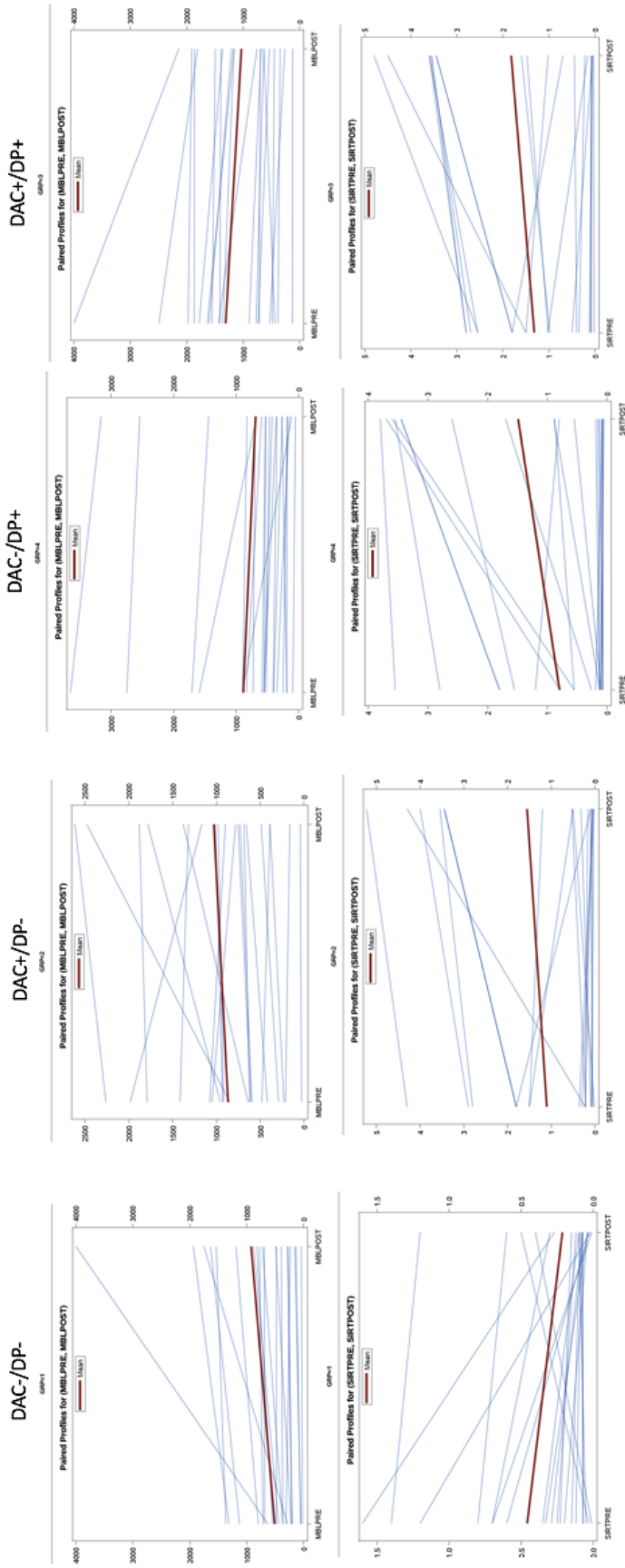


Figura 3. Variações das concentrações séricas de MBL e SIRT1 nos grupos DAC-/DP⁻, DAC-/DP⁺, DAC+/DP⁻ e DAC+/DP⁺

Observou-se, após o tratamento periodontal nos grupos DP⁺ (DAC⁺DP⁺ e DAC⁻DP⁺), redução do Índice de Placa (63,9% ± 5,7% vs. 37,8% ± 10,5%; p < 0,001); Sangramento Pós-Sondagem (34,2% ± 6,9% vs. 16,9% ± 5,5%; p < 0,001), do Nível Clínico de Inserção (5,3 ± 0,7 vs. 4,49 ± 0,8 mm; p < 0,001) e da Profundidade da Bolsa (5,3 ± 0,8 vs. 3,3 ± 0,7 mm; p < 0,001).

Observou-se, após o tratamento periodontal no grupo DAC⁻DP⁺, redução do Índice de Placa (63,3% ± 6,4% vs. 38,8% ± 10,5%; p < 0,001), do Sangramento Pós-Sondagem (35,2% ± 8,4% vs. 18,2% ± 5,4%; p < 0,001), do Nível Clínico de Inserção (5,66 ± 0,62 vs. 4,68 ± 0,77 mm; p < 0,001) e da Profundidade de Sondagem (5,5 ± 0,7 vs. 3,26 ± 0,74 mm; p < 0,001).

Observou-se, após o tratamento periodontal no grupo DAC⁺DP⁺, redução do Índice de Placa (64,6% ± 5,1% vs. 36,8% ± 10,7%; p < 0,001), do Sangramento Pós-Sondagem (33,2% ± 5,0% vs. 15,7 % ± 5,5%; p < 0,001), do Nível Clínico de Inserção (4,9 ± 0,6 vs. 4,3 ± 0,7 mm; p < 0,001) e da Profundidade de Sondagem (4,9 ± 0,7 vs. 3,3 ± 0,6 mm; p < 0,001).

DISCUSSÃO



5. DISCUSSÃO

Observou-se em nosso estudo significativa redução do índice de placa, do sangramento à sondagem, do nível clínico de inserção e da profundidade de sondagem, nos pacientes que receberam tratamento periodontal. O tratamento não cirúrgico que consiste na raspagem e no alisamento radicular mostrou-se eficaz na DP quando comparado com as abordagens cirúrgicas.¹²¹ Estudo mostrou que ambas as técnicas promoveram redução da profundidade da bolsa periodontal e do ganho nos níveis de inserção clínica.¹²² O nosso estudo optou pela utilização de antibioticoterapia em associação ao tratamento não cirúrgico da DP devido aos resultados de artigos recentes que mostraram sua eficácia no auxílio ao tratamento não cirúrgico da DP.^{123, 124, 125} O nosso estudo também mostrou que o tratamento não cirúrgico da DP associou-se com redução da concentração sérica de MBL e aumento da concentração sérica de SIRT1. Os valores médios iniciais da MBL e da SIRT1 foram maiores nos indivíduos com DAC e/ou com DP quando comparados com os indivíduos do grupo controle e o tratamento da DP associou-se com redução dos níveis de MBL e aumentos dos níveis de SIRT1. Após o tratamento da DP, observou-se também redução da concentração sérica da PCR para valores médios menores de 3 mg/dL.

Os níveis plasmáticos de MBL aumentam durante os processos infecciosos e inflamatórios.¹²⁶ A MBL reconhece e se liga a grupos específicos de açúcar existentes na superfície de microrganismos. Vários patógenos periodontais possuem polissacarídeos contendo manose na sua superfície celular. Ao ligar-se a esses microrganismos, a MBL ativa a via da lectina do sistema do complemento.¹²⁷ Além disso, a MBL é capaz de promover inflamação, deslocamento de células apoptóticas e opsonofagocitose independentemente do complemento.¹²⁸ A maioria das investigações sobre a MBL se concentrou na sua deficiência relacionada às mutações

alélicas, tanto para baixos níveis de proteína, quanto para proteínas disfuncionais e na suscetibilidade à infecção associada a essa deficiência.^{55, 129, 130} Contudo, indivíduos que possuem o mesmo genótipo podem ter variados níveis séricos.¹³¹ Estudos mais recentes mostraram que níveis séricos elevados de MBL associaram-se com pior prognóstico em várias doenças,^{132, 133, 134, 135, 136, 137} bem como com o envolvimento em lesões teciduais e vasculares.¹³⁸

Estudos são contraditórios sobre o papel da MBL na fisiopatologia da aterosclerose. Por exemplo, estudos mostram que a deficiência da MBL, isto é níveis séricos < 100 ng/mL, tem maior incidência de infarto do miocárdio e maior progressão da DAC, associada ou não a outras doenças.^{139, 140, 141} Porém, outros estudos mostraram que níveis séricos elevados de MBL estão associados ao maior risco de infarto do miocárdio¹²⁴, assim como pior prognóstico no tratamento cirúrgico da DAC.¹⁴² Portanto, a relação entre a MBL e a doença aterosclerótica é controversa e pouco conhecida, mas indivíduos com deficiência de MBL mostraram-se mais suscetíveis à doença aterosclerótica.¹⁴³ Por outro lado, níveis elevados dessa proteína têm efeito prejudicial em pacientes que já possuem a DAC instalada. O nosso estudo mostrou maiores valores médios iniciais da MBL nos grupos de pacientes com DAC comparados com os indivíduos controles. O valor médio inicial foi ainda maior com a associação da DAC e DP sugerindo em nosso estudo uma relação direta entre os níveis elevados de MBL e DAC potencializada pela DP. Estudos experimentais mostraram que a via da MBL está envolvida na inflamação induzida por isquemia em ratos¹⁴⁴ e a administração de anticorpos anti-MBL atenua essa resposta inflamatória da isquemia/reperfusão.¹⁴⁵ Estudo em humanos também mostrou que pacientes diabéticos do tipo I com doença macro ou microvascular tinham níveis significativamente elevados de MBL quando comparados com pacientes diabéticos do tipo I sem complicação vascular.¹⁴⁶ Estudo recente mostrou que iniciadores da via das

lectinas, como a MBL, estão presentes em placas de ateroma e que os seus níveis circulantes da MBL influenciam na instabilidade dessa placa. Os autores analisaram as placas de ateroma e as categorizaram pelas características morfológicas associadas à instabilidade da placa¹⁴⁷, tais como: conteúdo hemorrágico e de colesterol, a área de núcleo lipídico, espessura total da túnica e conteúdo infiltrativo vascular. Eles mostraram a presença da MBL no núcleo necrótico e na camada média da túnica contribuindo para a instabilidade da placa de ateroma.⁶⁶ Portanto, os níveis de MBL podem ser possíveis sinalizadores de instabilidade da placa aterosclerótica.

Em nosso estudo, o tratamento da condição periodontal associou-se com uma redução significativa dos níveis séricos da MBL. O tratamento periodontal contribuiu para uma redução de até 25% do valor inicial da concentração de MBL. Ao contrário do observado em nosso estudo, Maffei *et al.*¹⁴⁸ não mostraram na periodontite níveis séricos elevados de MBL e a deficiência da MBL também não foi relacionada à maior suscetibilidade para a DP. No entanto, esses autores definiram a deficiência de MBL arbitrariamente como níveis séricos da MBL abaixo de 800 ng/ml, enquanto que na maioria dos estudos utiliza-se como deficiência os níveis séricos abaixo de 100 ng/ml.^{149, 150, 151, 152, 153} Louropoulou *et al.*¹⁵⁴ também mostraram que mesmo em indivíduos deficientes para a produção de MBL a presença da DP associou-se com níveis séricos aumentados de MBL. Da mesma forma, nosso estudo mostrou que pacientes com DP e DAC tiveram níveis aumentados de MBL e o tratamento da DP associou-se com redução dos níveis séricos de MBL. Esses resultados corroboram com os encontrados em estudos prévios que mostraram a MBL como um reagente de fase aguda.^{155,156,157} Isso explica, em parte, a redução nos níveis séricos da MBL observada em nosso estudo após o tratamento periodontal.

Esses achados tornam-se mais confiáveis quando analisamos também os resultados dos níveis séricos da PCR, outro importante marcador de atividade

inflamatória aguda. O nosso estudo mostrou uma redução significativa dos níveis séricos de PCR no grupo que recebeu tratamento periodontal. Nossos resultados foram semelhantes a outros estudos que mostram níveis séricos elevados de PCR na DP.^{158, 159, 160, 161} Sabe-se que a PCR é um marcador de resposta de fase inflamatória aguda e é uma ferramenta útil na avaliação de doenças infecto-inflamatórias agudas, tais como artrite reumatoide, pancreatite aguda e pneumonias.¹⁶² A PCR ganhou destaque na área cardiovascular com a hipótese inflamatória para a doença aterosclerótica.¹⁶³ Sua avaliação agrega valor preditivo na determinação do risco de um primeiro evento cardiovascular em homens e mulheres saudáveis.^{164, 165, 166, 167, 168,}
¹⁶⁹ Recentemente, a medida da PCR vem sendo sugerida na avaliação do risco cardiovascular nos pacientes de risco intermediário e como um dos critérios clínicos da síndrome metabólica.^{170, 171, 172} Nos pacientes com diagnóstico de doença coronária a dosagem da PCR mostrou-se útil na identificação daqueles com maior risco de novos eventos.¹⁷³

A associação entre a DAC e a DP tem sido sugerida por revisões sistemáticas e meta-análises.^{174, 175, 176, 177, 178} A maioria dos estudos mostrou uma associação positiva entre essas doenças, porém os aspectos metodológicos dos estudos ainda são passíveis de questionamentos.¹⁷⁹ Humphrey et al.¹⁸⁰ mostraram uma relação direta entre o aumento do risco de DAC e a intensidade da DP. Bahekar et al.¹⁸¹ também mostraram que tanto a prevalência quanto a incidência de DAC estão significativamente aumentadas na DP, concluindo que a DP pode ser um indicador de risco para DAC. Alguns autores sugeriram que a DP e a doença cardiovascular têm uma associação duvidosa, sugerindo que a exposição bacteriana sistêmica da periodontite pode ser um fator de risco mais confiável. Mustapha et al.,¹⁸² mostraram que marcadores elevados de exposição bacteriana sistêmica na DP, tais como carga bacteriana periodontal, sorologia específica para periodontite e PCR, associaram a um maior risco de DAC quando comparados aos indivíduos sem DP.

Outro achado em nosso estudo mostrou que o tratamento não cirúrgico da DP associou-se com aumento da concentração sérica da SIRT1. Os efeitos benéficos da SIRT1 na inflamação, metabolismo lipídico e aterosclerose foram bem documentados em estudos pré-clínicos e em animais.¹⁸³ Stein et al.,¹⁸⁴ utilizando a deleção parcial da SIRT1 em camundongos ateroscleróticos, mostraram que a SIRT1 protege contra a aterosclerose, reduzindo a formação de células espumosas macrofágicas. A SIRT1 aumenta a produção de óxido nítrico e favorece a vasodilatação.¹⁸⁵ As intervenções que aumentam a produção de SIRT1, tais como a restrição calórica e o resveratrol, atenuaram significativamente o estresse oxidativo vascular relacionado à idade e à inflamação e melhoraram a função endotelial.¹⁸⁶ Estudo em ratos obesos Zucker mostrou maior progressão da periodontite com o aumento do estresse oxidativo induzido pela obesidade.¹⁸⁷ Outros estudos em animais mostraram que o resveratrol e a curcumina promoveram uma diminuição da degradação periodontal induzida experimentalmente pela redução do estresse oxidativo possivelmente mediado pela ativação da via das sirtuínas.^{188,189, 190} Estudos em cultura de células também mostraram redução de substâncias pró-inflamatórias, tais como metaloproteinases de matriz e interleucinas mediada pela SIRT1.^{191,192} Porém, em humanos, a interação entre a concentração sérica de SIRT1 e a influência do tratamento da DP está sendo realizada, pelo que percebemos, pioneiramente por esse estudo. O aumento da concentração sérica de SIRT1 foi, provavelmente, consequência do tratamento da DP e há, também, a possibilidade desse aumento ter influído positivamente na resposta ao tratamento. Estudo recente mostrou que a SIRT1 é um potente regulador da diferenciação das células do ligamento periodontal humano e pode ter implicações clínicas na regeneração óssea periodontal.¹⁰⁶ O aumento da concentração sérica de SIRT1 reduz o estresse oxidativo e esse aumento pode ser benéfico em pacientes com DP. Machida et al.,¹⁹³ mostraram que redução no nível clínico de inserção está associada com redução dos níveis plasmáticos dos metabólitos reativos de oxigênio a menor da progressão da DP.

CONCLUSÃO



6. CONCLUSÃO

Em conclusão, podemos sugerir que a redução da concentração sérica da MBL e da PCR e o aumento dos níveis séricos de SIRT1, observados após o tratamento da DP, propiciaria melhores características bioquímicas e metabólicas do sangue contribuindo assim para uma maior proteção vascular ao processo da aterosclerose coronária. Porém, estudos prospectivos serão necessários para avaliar o impacto da MBL e da SIRT1 como biomarcadores na incidência e no prognóstico da DAC.

REFERÊNCIAS



7. REFERÊNCIAS

-
- ¹ Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol.* 2004; 34: 9-21.
- ² Beck JD, Offenbacher S. The association between periodontal diseases and cardiovascular diseases: a state-of-the-science review. *Ann Periodontol.* 2001; 6: 9-15.
- ³ Løe H, Anerud A, Boysen H, Smith M. The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. *J Periodontol.* 1986; 49: 607-20.
- ⁴ Kinane DF, Berglundh T, Lindhe J Host–parasite interactions in periodontal disease. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, Fourth Ed. Blackwell Munksgaard, Oxford, UK. 2003; 186-231.
- ⁵ Kinane DF, Preshaw PM, Loos BG Host- response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions – Consensus of the Seventh European Workshop of Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2011; 38: 44-8.
- ⁶ Paquette DW, Brodala N, Nichols TC. Cardiovascular disease, inflammation, and periodontal infection. *Periodontol.* 2007; 44: 113-126.
- ⁷ Taylor BA, Tofler GH, Carey HMR, Morel-Kopp MC, Philcox S, Carter TR. Full-mouth tooth extraction lowers systemic inflammatory and thrombotic markers of cardiovascular risk. *J Dent Res.* 2006; 85: 74-8.
- ⁸ Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesäniemi YA, Syrjälä SL, Jungell PS, Isoluoma M, Hietaniemi K, Jokinen MJ. Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ.* 1989; 298: 779-782.
- ⁹ Mattila KJ. Dental infections as a risk factor for acute myocardial infarction. *EurHeart J.* 1993; 14: 51-53.

-
- ¹⁰ DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart and mortality. *BMJ*. 1993; 306: 688-91.
- ¹¹ Beck JD, Elter JR, Heiss G, Couper D, Mauriello SM, Offenbacher S. Relationship of periodontal disease to carotid artery intima-media wall thickness: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*. 2001; 21: 1816 -22.
- ¹² Roifman I, Beck PL, Anderson TJ, Eisenberg MJ, Genest J. Chronic Inflammatory Diseases and Cardiovascular Risk: A Systematic Review. *Can J Cardiol*. 2011; 27: 174 –182.
- ¹³ Ohki T, Itabashi Y, Kohno T, Yoshizawa A, Nishikubo S, Watanabe S, Yamane G, Ishihara K. Detection of periodontal bacteria in thrombi of patients with acute myocardial infarction by polymerase chain reaction. *Am Heart J*. 2012; 163: 164-7.
- ¹⁴ Pessi T, Karhunen V, Karjalainen PP, Ylitalo A, Airaksinen JK, Niemi M, Pietila M, Lounatmaa K, Haapaniemi T, Lehtimäki T, Laaksonen R, Karhunen PJ, Mikkelsen J. Bacterial signatures in thrombus aspirates of patients with myocardial infarction. *Circulation*. 2013; 127: 1219-28.
- ¹⁵ Katz J, Flugelman MY, Goldberg A, Heft M. Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Periodontol*. 2002; 73: 494-500.
- ¹⁶ Suresh S, Narayana S, Jayakumar P, Sudhakar U, Pramod V. Evaluation of anti-inflammatory effect of statins in chronic periodontitis. *Indian J Pharmacol*. 2013; 45: 391-4.

-
- ¹⁷ Nassar CA, Battistetti GD, Nahsan FP, Olegário J, Marconato J, Marin CF, Faccioni DM, da Costa KF, Kottwitz LB, Nassar PO. Evaluation of the effect of simvastatin on the progression of alveolar bone loss in experimental periodontitis - an animal study. *J Int Acad Periodontol*. 2014; 16: 2-7.
- ¹⁸ Inoue K, Kobayashi Y, Hanamura H, Toyokawa S. Association of periodontitis with increased white blood cell count and blood pressure. *Blood Press*. 2005; 14: 53-8.
- ¹⁹ Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P, Deanfield J. Treatment of Periodontitis and Endothelial Function. *N Engl J Med*. 2007; 356: 919-20.
- ²⁰ Rydén L, Buhlin K, Ekstrand E, de Faire U, Gustafsson A, Holmer J, Kjellström B, Lindahl B, Norhammar A, Nygren Å, Näsman P, Rathnayake N, Svenungsson E, Klinge B. Periodontitis Increases the Risk of a First Myocardial Infarction: A Report from the PAROKRANK Study. *Circulation*. 2016; 133: 576-83.
- ²¹ Granados-Principal S, El-Azem N, Quiles JL, Perez-Lopez P, Gonzalez A, Ramirez-Tortosa M. Relationship between cardiovascular risk factors and periodontal disease: current knowledge. In: Gasparyan AY, editor. *Cardiovascular Risk Factors*. 1st ed. Shanghai: InTech; 2012; 1: 193-216.
- ²² Meurman JH, Sanz M, Janket S-J. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004; 15: 403-13.
- ²³ Persson GR, Persson RE. Cardiovascular disease and periodontitis: an update on the associations and risk. *J Clin Periodontol*. 2008; 35: 362–79.
- ²⁴ Kebschull M, Demmer R, Papapanou P. “Gum bug, leave my heart alone!”-epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent Res*. 2010; 89: 879-902.

-
- ²⁵ Blaizot A, Vergnes J-N, Nuwwareh S, Amar J, Sixou M. Periodontal diseases and cardiovascular events: meta-analysis of observational studies. *Int Dent J.* 2009; 59: 197-209.
- ²⁶ Stewart R, West M. Increasing Evidence for an Association Between Periodontitis and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2016; 133: 549-51.
- ²⁷ Yan ZQ, Hansson GK. Innate immunity, macrophage activation, and atherosclerosis. *Immunol Rev.* 2007; 219: 187-203.
- ²⁸ Hansson GK. Regulation of immune mechanisms in atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 947: 157-65.
- ²⁹ Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature.* 2011; 473: 317-25.
- ³⁰ Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-26.
- ³¹ Mansur AP, Favarato D. Mortality due to cardiovascular diseases in Brazil and in the metropolitan region of São Paulo: a 2011 update. *Arq Bras Cardiol.* 2012; 99: 755-761.
- ³² Signorelli SS, Fiore V, Malaponte G. Inflammation and peripheral arterial disease: The value of circulating biomarkers. *Int J Mol Med.* 2014; 33: 777-83.
- ³³ Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 1997; 336: 973-9.
- ³⁴ Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54: 2129-38.
- ³⁵ Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, Taubert KA, Newburger JW, Gornik HL, Gewitz MH, Wilson WR, Smith SC Jr, Baddour LM. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence

support an independent association? A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012; 125: 2520–44.

³⁶ Golia E, Limongelli G, Natale F, Fimiani F, Maddaloni V, Pariggiano I, et al. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep*. 2014; 16: 435.

³⁷ Gomes-Filho IS, Freitas Coelho JM, da Cruz SS, Passos JS, Teixeira de Freitas CO, Aragao Farias NS, Amorim da Silva R, Silva Pereira MN, Lima TL, Barreto ML. Chronic periodontitis and C-reactive protein levels. *J Periodontol*. 2011; 82: 969–78.

³⁸ Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2005; 76: 2106–15.

³⁹ Elter JR, Hinderliter AL, Offenbacher S, Beck J, Caughey M, Brotala N, Madianos PN. The effects of periodontal therapy on vascular endothelial function: A pilot trial. *Clinical Investigation*. *Am Heart J*. 2006; 151: 471-6.

⁴⁰ Tonetti M, D’Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani D, Vallance P, Deanfield J. Treatment of Periodontitis and Endothelial Function. *N. Engl J Med*. 2007; 356: 919-20.

⁴¹ Turvey SE, Broide D. H. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125: 24-32.

⁴² Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol*. 2009; 21: 317-37.

⁴³ Ricklin D, Lambris JD. Complement-targeted therapeutics. *Nature Biotechnol*. 2007; 25: 1265-75.

⁴⁴ Franch-Chillida F, Nibali L, Madden I, Donos N. Association between interleukin-6 polymorphisms and periodontitis in Indian non-smokers. *J Clin Periodontol*. 2010; 37: 137-44.

⁴⁵ Gillitzer R, Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol*. 2001; 69: 513-21.

-
- ⁴⁶ Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003; 21: 335–76.
- ⁴⁷ Cursiefen C. Immune privilege and angiogenic privilege of the cornea. *Chem Immunol Allergy.* 2007; 92: 50–7.
- ⁴⁸ Krysko DV, D'Herde K, Vandenabeele P. Clearance of apoptotic and necrotic cells and its immunological consequences. *Apoptosis.* 2006; 11: 1709–26.
- ⁴⁹ Fujita T. Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2: 346–53.
- ⁵⁰ Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol. Today.* 1996; 17: 532-40.
- ⁵¹ Turner MW. The lectin pathway of complement activation. *Res. Immunol.* 1996; 147: 110-5.
- ⁵² Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol.* 2003; 40: 423-29.
- ⁵³ Mattila, KJ. Dental infections as a risk factor for acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 1993; 14: 51-3.
- ⁵⁴ Jack DL, Klein NJ, Turner MW. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. *Immunol Rev.* 2001; 180: 86–99.
- ⁵⁵ Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun.* 2006; 7: 85-94.
- ⁵⁶ Liukkonen A, He Q, Gürsoy UK, Pussinen PJ, Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Liukkonen J, Sorsa T, Suominen AL, Huumonen S, Könönen E. Mannose-binding lectin gene polymorphism in relation to periodontal infection. *J Periodont Res.* 2016; 14: 1-6.
- ⁵⁷ Best LG, Davidson M, North KE, MacCluer JW, Zhang Y, Lee ET, Howard BV, DeCroo S, Ferrell RE. Prospective analysis of mannose-binding lectin genotypes

and coronary artery disease in American Indians: the Strong Heart Study. *Circulation*. 2004; 109: 471–5.

⁵⁸ Saevarsdottir S, Oskarsson OO, Aspelund T, Eiriksdottir G, Vikingsdottir T, Gudnason V, Valdimarsson H. Mannan binding lectin as an adjunct to risk assessment for myocardial infarction in individuals with enhanced risk. *J Exp Med*. 2005; 201: 117–25.

⁵⁹ Walsh MC, Bourcier T, Takahashi K, Shi L, Busche MN, Rother RP, Solomon SD, Ezekowitz RA, Stahl GL. Mannose-binding lectin is a regulator of inflammation that accompanies myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Immunol*. 2005; 175: 541–6.

⁶⁰ Hart ML, Ceonzo KA, Shaffer LA, Takahashi K, Rother RP, Reenstra WR, Buras JA, Stahl GL. Gastrointestinal ischemia-reperfusion injury is lectin complement pathway dependent without involving C1q. *J Immunol*. 2005; 174: 6373–80.

⁶¹ De la Rosa X, Cervera A, Kristoffersen AK, Valdés CP, Varma HM, Justicia C, Durduran T, Chamorro Á, Planas AM. Mannose-binding lectin promotes local microvascular thrombosis after transiente brain ischemia in mice. *Stroke*. 2014; 45: 1453–9.

⁶² Madsen HO, Videm V, Svejgaard A, Svennevig JL, Garred P. Association of mannose-binding lectin deficiency with severe atherosclerosis. *Lancet*. 1998; 352: 959–60.

⁶³ Linnell V, Aittoniemi J, Vaarala O, Lehtimäki T, Laine S, Virtanen V, Palosuo T, Miettinen A. Association of mannan-binding lectin deficiency with venous bypass graft occlusions in patients with coronary heart disease. *Cardiology*. 2002; 98: 123–6.

⁶⁴ Rugonfalvi –Kiss S, Dósa E, Madsen HO, Endrész V, Phohászka Z, Laki J, Karádi I, Gönczöl E, Selmeçi L, Romics L, Füst G, Entz L, Garred P. High rate of early

restenosis after carotid eversion endarterectomy in homozygous carriers of the normal mannose – binding lectin genotype. *Stroke*. 2005; 36: 944-8.

⁶⁵ Berger SP, Roos A, Mallat MJ, Schaapherder AF, Doxiadis II, van Kooten C, Dekker FW, Daha MR, de Fijter JW. Low pretransplantation mannose-binding lectin levels predict superior patient and graft survival after simultaneous pancreas-kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18: 2416-22.

⁶⁶ Fumagalli S, Perego C, Zangari R, De Blasio D, Oggioni M, De Nigris F, Snider F, Garred P, Ferrante AM, De Simoni MG. Lectin Pathway of Complement Activation Is Associated with Vulnerability of Atherosclerotic Plaques. *Front Immunol*. 2017; 8: 288.

⁶⁷ Zhang W, Huang Q, Zeng Z, Wu J, Zhang Y, Chen Z. Sirt1 Inhibits Oxidative Stress in Vascular Endothelial Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017: 7543973.

⁶⁸ Ivy JM, Klar AJ, Hicks JB. Cloning and characterization of four SIR genes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*. 1986; 6: 688-702.

⁶⁹ Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 273: 793-8.

⁷⁰ Guarente L, Franklin H. Epstein Lecture: Sirtuins, aging, and medicine. *N Engl J Med*. 2011; 364: 2235-44.

⁷¹ Moschen AR, Wieser V, Gerner RR, Bichler A, Enrich B, Moser P, Ebenbichler CF, Kaser S, Tilg H. Adipose tissue and liver expression of SIRT1, 3, and 6 increase after extensive weight loss in morbid obesity. *J Hepatol*. 2013; 59: 1315-22.

⁷² Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med*. 2012; 18: 363–74.

⁷³ Mansur AP, Roggerio A, Goes MFS, Avakian SD, Leal DP, Maranhão RC, Strunz CMC.

Randomized study of 30 days of resveratrol and caloric restriction on serum levels of sirtuin1 in healthy subjects. *Int J Cardiol*. 2017; 227: 788-94.

-
- ⁷⁴ Fentoğlu O, Sözen T, Oz SG, Kale B, Sönmez Y, Tonguç MO, Gürkan CA, Aykaç Y, Kirzioğlu FY. Short-term effects of periodontal therapy as an adjunct to anti-lipemic treatment. *Oral Dis.* 2010; 16: 648-54.
- ⁷⁵ Lamster IB, Pagan M. Periodontal disease and the metabolic syndrome. *Int Dent.* 2016; 9: 1-11.
- ⁷⁶ Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. *J Periodontol.* 2000; 71: 1375-84.
- ⁷⁷ Noack B, Jachmann I, Roscher S, Sieber L, Kopprasch S, Lück C, Hanefeld M, Hoffmann T. Metabolic diseases and their possible link to risk indicators of periodontitis. *J Periodontol.* 2000; 71: 898-903.
- ⁷⁸ Wang F, Chen HZ, Lv X, Liu DP. SIRT1 as a novel potential treatment target for vascular aging and age-related vascular diseases. *Curr Mol Med.* 2013; 13: 155-164.
- ⁷⁹ Potente M, Ghaeni L, Baldessari D, Mostoslavsky R, Rossig L, Dequiedt F, Haendeler J, Mione M, Dejana E, Alt FW, Zeiher AM, Dimmeler S. SIRT1 controls endothelial angiogenic functions during vascular growth. *Genes Dev.* 2007; 21: 2644-58.
- ⁸⁰ Balestrieri ML, Rienzo M, Felice F, Rossiello R, Grimaldi V, Milone L, Casamassimi A, Servillo L, Farzati B, Giovane A, Napoli C. High glucose downregulates endothelial progenitor cell number via SIRT1. *Biochim Biophys Acta.* 2008; 1784: 936-45.
- ⁸¹ Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 287-96.
- ⁸² D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res.* 2010; 89: 1241-6.

-
- ⁸³ Masi S, Salpea KD, Li K, Parkar M, Nibali L, Donos N, Patel K, Taddei S, Deanfield JE, D'Aiuto F, Humphries SE. Oxidative stress, chronic inflammation, and telomere length in patients with periodontitis. *Free Radic Biol Med.* 2011; 50: 730-35.
- ⁸⁴ de Oliveira C, Watt R, Hamer M. Toothbrushing, inflammation, and risk of cardiovascular disease: results from Scottish Health Survey. *BMJ.* 2010; 340: c2451.
- ⁸⁵ Balan H. Do cardiovascular and periodontal diseases have a close, causal relationship? *Rom J Intern Med.* 2010; 48: 121-9.
- ⁸⁶ Fletcher AE, Bulpitt CJ. Epidemiological aspects of cardiovascular disease in the elderly. *J Hypertens.* 1992; 10: 51-8.
- ⁸⁷ Donato AJ, Eskurza I, Silver AE, Levy AS, Pierce GL, Gates PE, Seals DR. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB. *Circ Res.* 2007; 100: 1659-66.
- ⁸⁸ Csiszar A, Ungvari Z, Edwards JG, Kaminski P, Wolin MS, Koller A, Kaley G. Aging-induced phenotypic changes and oxidative stress impair coronary arteriolar function. *Circ Res.* 2002; 90(11): 1159-66.
- ⁸⁹ Van der Loo B, Labugger R, Skepper JN, Bachschmid M, Kilo J, Poweli JM, Palacios-Callender M, Erusalimsky JD, Quaschnig T, Malinski T, Gygi D, Ullrich V, Lüscher TF. Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. *J Exp Med.* 2000; 192: 1731-44.
- ⁹⁰ Adler A, Messina E, Sherman B, Wang Z, Huang H, Linke A, Hintze TH. NAD(P)H oxidase-generated superoxide anion accounts for reduced control of myocardial O₂ consumption by NO in old Fischer 344 rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285: 1015-22.

-
- ⁹¹ Jacobson A, Yan C, Gao Q, Rincon-Skinner T, Rivera A, Edwards J, Huang A, Kaley G, Sun D. Aging enhances pressure-induced arterial superoxide formation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 293: 1344-50.
- ⁹² Sun D, Huang A, Yan EH, Wu Z, Yan C, Kaminski PM, Oury TD, Wolin MS, Kaley G. Reduced release of nitric oxide to shear stress in mesenteric arteries of aged rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 286: 2249-56.
- ⁹³ Hamilton CA, Brosnan MJ, McIntyre M, Graham D, Dominiczak AF. Superoxide excess in hypertension and aging: a common cause of endothelial dysfunction. *Hypertension*. 2001; 37: 529-34.
- ⁹⁴ Francia P, delli Gatti C, Bachschmid M, martin-Padura I, Savoia C, Migliaccio E, Pelicci PG, Schiavoni M, Lüscher TF, Volpe M, Cosentino F. Deletion of p66shc gene protects against age-related endothelial dysfunction. *Circulation*. 2004; 110: 2889-95.
- ⁹⁵ Csiszar A, Labinsky N, Orosz Z, Xiangmin Z, Buffenstein R, Ungvari Z. Vascular aging in the longest-living rodent, the naked mole-rat. *Am J Physiol*. 2007; 293: 919-27.
- ⁹⁶ Ungvari ZI, Orosz Z, Labinsky N, Rivera A, Xiangmin Z, Smith K, Csiszar A. Increased mitochondrial H₂O₂ production promotes endothelial NF-κB activation in aged rat arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 293: 37-47.
- ⁹⁷ Jablonski KL, Seals DR, Eskurza I, Monahan KD, Donato AJ. High dose ascorbic acid infusion abolishes chronic vasoconstriction and restores resting leg blood flow in healthy older men. *J Appl Physiol*. 2007; 103: 1715-21.
- ⁹⁸ Ungvari Z, Buffenstein R, Austad SN, Podlutzky A, Kaley G, Csiszar A. Oxidative stress in vascular senescence: lessons from successfully aging species. *Front Biosci*. 2008; 13: 5056-70.
- ⁹⁹ Tamaki N, Tomofuji T, Maruyama T, Ekuni D, Yamanaka R, Takeuchi N, Yamamoto T. Relationship between periodontal condition and plasma reactive oxygen metabolites

in patients in the maintenance phase of periodontal treatment. *J Periodontol.* 2008; 79: 2136-42.

¹⁰⁰ Tamaki N, Hayashida H, Fukui M, Kitamura M, Kawasaki K, Nakazato M, Maeda T, Saito T, Ito HO. Oxidative stress and antibody levels to periodontal bacteria in adults: the Nagasaki Islands study. *Oral Dis.* 2014; 20: 49-56.

¹⁰¹ Li L, Zhang HN, Chen HZ, Gao P, Zhu LH, Li HL, Lv X, Zhang QJ, Zhang R, Wang Z, She ZG, Zhang R, Wei YS, Du GH, Liu DP, Liang CC. SIRT1 acts as a modulator of neointima formation following vascular injury in mice. *Circ Res.* 2011; 108: 1180-89.

¹⁰² Zhang QJ, Wang Z, Chen HZ, Zhou S, Zheng W, Liu G and Wei YS, Cai H, Liu DP, Liang CC. Endothelium-specific overexpression of class III deacetylase SIRT1 decreases atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Cardiovasc Res.* 2008; 80: 191-99.

¹⁰³ Orimo M, Minamino T, Miyauchi H, Tateno K, Okada S, Moriya J, Komuro I. Protective role of SIRT1 in diabetic vascular dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29: 889-94.

¹⁰⁴ Ota H, Eto M, Ogawa S, Iijima K, Akishita M, Ouchi Y. SIRT1/eNOS axis as a potential target against vascular senescence, dysfunction and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2010; 17: 431-35.

¹⁰⁵ Zu Y, Liu L, Lee MY, Xu C, Liang Y, Man RY, Vanhoutte PM, Wang Y. SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells. *Circ Res.* 2010; 106: 1384-93.

¹⁰⁶ Lee YM, Shin SI, Shin KS, Lee YR, Park BH, Kim EC. The role of sirtuin 1 in osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2011; 46: 712–21.

-
- ¹⁰⁷ Pradeep Ar, Hadge P, Arjun Raju P, Shetty Sr, Shareef K, Guruprasad CN. Periodontitis as a risk factor for cerebrovascular accident: a casecontrol study in the Indian population. *J Periodontal Res.* 2010; 45: 223-8.
- ¹⁰⁸ Alman AC, Johnson LR, Calverley DC, Grunwald G, Lezotte DC, Forster-Harwood JE, Hokanson JE. Loss of alveolar bone due to periodontal disease exhibits a threshold on the association with coronary heart disease. *J Periodontol.* 2011; 82: 1304-13.
- ¹⁰⁹ Fadel HT, Al-Kindy KA, Mosalli M, Heijl L, Birkhed D. Caries risk profile and periodontal disease severity in patients with coronary artery disease: A Case-Control study. *J Periodontol.* 2011; 82: 1295-303.
- ¹¹⁰ Beck JD, Eke P, Heiss G, Madianos P, Couper D, Lin D, Moss K, Elter J, Offenbacher S. Periodontal disease and coronary heart disease: A Reappraisal of the Exposure. *Circulation.* 2005; 112: 19-24.
- ¹¹¹ Maekawa T, Takahashi N, Tabeta K, Aoki Y, Miyashita H, Miyauchi S, Miyazawa H, Nakajima T, Yamazaki K. Chronic oral infection with *Porphyromonas gingivalis* accelerates atheroma formation by shifting the lipid profile. *PLoS One.* 2011; 6: e20240.
- ¹¹² Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: 9-16.
- ¹¹³ Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 4: 1-6.
- ¹¹⁴ Caton GJ, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: 1-8.
- ¹¹⁵ O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J. Periodontol.* 1972; 43: 38

-
- ¹¹⁶ Lenox JA, Kopczyk RA. A clinical system for scoring a patient's oral hygiene performance. *J Am Dent Assoc.* 1973; 86: 849-52.
- ¹¹⁷ Feres M, Soares GM, Mendes JA, Silva MP, Faveri M, Teles R, Socransky SS, Figueiredo LC. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012; 39: 1149-58.
- ¹¹⁸ Sgolastra F, Gatto R, Petrucci A, Monaco A. Effectiveness of systemic amoxicillin / metronidazole as adjunctive therapy to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2012 Oct; 83(10): 1257-69
- ¹¹⁹ Feres M, Retamal-Valdes B, Mestnik MJ, de Figueiredo LC, Faveri M, Duarte PM, Fritoli A, Faustino E, Souto MLS, de Franco Rodrigues M, Giudicissi M, Nogueira BCL, Saraiva L, Romito GA, Pannuti CM. The ideal time of systemic metronidazole and amoxicillin administration in the treatment of severe periodontitis: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2018; 19: 201.
- ¹²⁰ Evans JD. *Straightforward statistics for the behavioral sciences.* Pacific Grove, CA: Brooks/Cole Publishing.1996.
- ¹²¹ Apatzidou DA, Kinane DF. Nonsurgical mechanical treatment strategies for periodontal disease. *Dent Clin North Am.* 2010; 54: 1-12.
- ¹²² Heitz-Mayfield LJ, Trombelli L, Heitz F, et al. A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 92–102.
- ¹²³ Feres M, Soares GM, Mendes JA, Silva MP, Faveri M, Teles R, Socransky SS, Figueiredo LC. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012; 39: 1149-58.

-
- ¹²⁴ Sgolastra F, Gatto R, Petrucci A, Monaco A. Effectiveness of systemic amoxicillin / metronidazole as adjunctive therapy to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2012 Oct; 83(10): 1257-69
- ¹²⁵ Feres M, Retamal-Valdes B, Mestnik MJ, de Figueiredo LC, Faveri M, Duarte PM, Fritoli A, Faustino E, Souto MLS, de Franco Rodrigues M, Giudicissi M, Nogueira BCL, Saraiva L, Romito GA, Pannuti CM. The ideal time of systemic metronidazole and amoxicillin administration in the treatment of severe periodontitis: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2018; 19: 201.
- ¹²⁶ Thiel S, Holmskov U, Hviid L, Laursen SB, Jensenius JC. The concentration of the C-type lectin, mannanbinding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol.* 1992; 90: 31–5.
- ¹²⁷ Ip WK, Takahashi K, Ezekowitz RA, Stuart LM. Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunol Rev.* 2009; 230: 9-21.
- ¹²⁸ Beltrame MH, Boldt AB, Catarino SJ, Mendes HC, Boschmann SE, et al. (2015) MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases. *Mol Immunol* 67: 85–100.
- ¹²⁹ Garred P. Mannose-binding lectin genetics: from A to Z. *Biochem Soc Trans.* 2008; 36: 1461-66.
- ¹³⁰ Heitzeneder S, Seidel M, Forster-Waldl E, Heitger A. Mannan-binding lectin deficiency – Good news, bad news, doesn't matter? *Clin Immunol.* 2012; 143: 22-38.
- ¹³¹ Louropoulou A, van der Velden U, Schoenmaker T, Catsburg A, Savelkoul PH, Loos BG. Mannose-binding lectin gene polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 923-30.

-
- ¹³² Carrera MC, Moura P, Crovella S, de Souza PR, de Alencar LC, Sarinho E. High polymorphism of the MBL2 gene in patients with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010; 105: 39–42.
- ¹³³ Hansen TK, Forsblom C, Saraheimo M, et al. Association between mannose-binding lectin, highsensitivity C-reactive protein and the progression of diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2010; 53: 1517–24.
- ¹³⁴ Hansen TK, Gall MA, Tarnow L, et al. Mannose-binding lectin and mortality in Type 2 diabetes. *Arch Intern Med.* 2006; 166: 2007–13.
- ¹³⁵ Carroll KE, Dean MM, Heatley SL, Meehan AC, Mifsud NA, Kotsimbos TC, Gl Snell, Westall GP. High levels of mannose-binding lectin are associated with poor outcomes after lung transplantation. *Transplantation.* 2011; 91: 1044–49.
- ¹³⁶ Bilgin YM, Brand A, Berger SP, Daha MR, Roos A. Mannose-binding lectin is involved in multiple organ dysfunction syndrome after cardiac surgery: effects of blood transfusions. *Transfusion.* 2008; 48: 601–8.
- ¹³⁷ Trendelenburg M, Theroux P, Stebbins A, Granger C, Armstrong P, Pfisterer M. Influence of functional deficiency of complement mannose-binding lectin on outcome of patients with acute ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J.* 2010; 31: 1181–7.
- ¹³⁸ Lai LT, Lee DC, Ko W, Shevde K, Zhang M. Deficiency of complement factor MBL in a patient required cardiac surgery after an acute myocardial infarction with underlying chronic lymphocytic leukemia. *Int J Cardiol.* 2010; 139: e24–6.
- ¹³⁹ Rugonfalvi-Kiss S, Endrész V, Madsen HO, Burián K, Duba J, Prohászka Z, Karádi I, Romics G, Gönczöl E, Fust L, Garred P. Association of *Chlamydia pneumoniae* with coronary artery disease and its progression is dependent on the modifying effect of mannose-binding lectin. *Circulation.* 2002; 106: 1071–6.

-
- ¹⁴⁰ Øhlenschlaeger T, Garred P, Madsen HO, Jacobsen S. Mannose-binding lectin variant alleles and the risk of arterial thrombosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2004; 351: 260–7.
- ¹⁴¹ Vengen IT, Madsen HO, Garred P, Platou C, Vatten L, Videm V. Mannose binding lectin deficiency is associated with myocardial infarction: the HUNT2 study in Norway. *PLoS One.* 2012; 7: e42113.
- ¹⁴² Rugonfalvi-Kiss S, Dósa E, Madsen HO, Endrész V, Prohászka Z, Laki J, Karádi I, Gönczöl E, Selmeçi G, Romics G, Füst L, Entz G, Garred P. High rate of early restenosis after carotid eversion endarterectomy in homozygous carriers of the normal mannose-binding lectin genotype. *Stroke.* 2005; 36: 944–8.
- ¹⁴³ Madsen HO, Videm V, Svejgaard A, Svennevig JL, Garred P. Association of mannose-binding lectin deficiency with severe atherosclerosis. *Lancet.* 1998; 352: 959–960.
- ¹⁴⁴ Vries, de B, Walter SJ, Peutz-Kootstra CJ, Wolfs TG, van Heurn LW, Buurman WA. The mannose-binding lectin-pathway is involved in complement activation in the course of renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Pathol.* 2004; 165: 1677–88.
- ¹⁴⁵ Jordan JE, Montalto MC, Stahl GL. Inhibition of mannose-binding lectin reduces postischemic myocardial reperfusion injury. *Circulation.* 2001; 104: 1413–8.
- ¹⁴⁶ Hansen TK, Tarnow L, Thiel S, Steffensen R, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Parving HH, Flyvbjerg A. Association between mannose-binding lectin and vascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2004; 53: 1570–6.
- ¹⁴⁷ Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Concept of vulnerable / unstable plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30: 1282–92.
- ¹⁴⁸ Maffei G, Brouwer N, Dolman KM, van der Velden, Roos D, Loos BG. Plasma levels of mannan-binding lectin in relation to periodontitis and smoking. *J Periodontol.* 2005; 76: 1881–9.

-
- ¹⁴⁹ Káplár M, Sweni S, Kulcsár J, Coghi B, Esze R, Somodi S, Papp M, Oláh L, Magyar MT, Szabó K, Czuriga-Kovács KR, Hársfalvi J, Paragh G. Mannose-Binding Lectin Levels and Carotid Intima-Media Thickness in Type 2 Diabetic Patients *J Diabetes Res.* 2016; 2016: 8132925
- ¹⁵⁰ Albert RK, Connett J, Curtis JL, Martinez FJ, Han MK, Lazarus SC, et al. Mannose-binding lectin deficiency and acute exacerbations of chronic obstructive. *Int J Copd.* 2012; 7: 767–77.
- ¹⁵¹ Eagan TM, Aukrust P, Bakke PS, Damås JK, Skorge TD, Hardie JA, et al. Systemic mannose-binding lectin is not associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 2010; 104: 283–90.
- ¹⁵² Neth O, Jack DL, Dodds AW, Holzel HJ, Klein MH, Turner MW. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun.* 2000; 68: 688–93.
- ¹⁵³ Goeldner I, Skare TL, Utiyama SR, Nisihara RM, Van Tong H, Messias-Reason IJT. Mannose binding lectin and susceptibility to rheumatoid arthritis in Brazilian patients and their relatives. *PLoS One.* 2014; 9: e95519.
- ¹⁵⁴ Louropoulou A, van der Velden U, Schoenmaker T, Catsburg A, Savelkoul PH, Loos BG. Mannose-binding lectin gene polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 923-30.
- ¹⁵⁵ Ezekowitz RA, Day LE, Herman GA. A human mannose-binding protein is an acute-phase reactant that shares sequence homology with other vertebrate lectins. *J Exp Med.* 1988; 167: 1034-46.
- ¹⁵⁶ Thiel S, Holmskov U, Hviid L, Laursen SB, Jensenius JC. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol.* 1992; 90: 31-5.

-
- ¹⁵⁷ Aittoniemi J, Rintala E, Miettinen A, Soppi E. Serum mannan-binding lectin (MBL) in patients with infection: clinical and laboratory correlates. *APMIS*. 1997; 105: 617-22.
- ¹⁵⁸ Gomes-Filho IS, Freitas Coelho JM, da Cruz SS, Passos JS, Teixeira de Freitas CO, Aragão Farias NS, Amorim da Silva R, Silva Pereira MN, Lima TL, Barreto ML. Chronic periodontitis and C-reactive protein levels. *J Periodontol*. 2011; 82(7): 969-78.
- ¹⁵⁹ Persson GR, Pettersson T, Ohlsson O, Renvert S. High-sensitivity serum C-reactive protein levels in subjects with or without myocardial infarction or periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32: 219–24.
- ¹⁶⁰ Fitzsimmons TR, Sanders AE, Bartold PM, Slade GD. Local and systemic biomarkers in gingival crevicular fluid increase odds of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010; 37: 30–6.
- ¹⁶¹ Balwant R, Jasdeep K, Simmi K, Rajnish J, S.C. Anand, Jaipaul S. Peripheral blood and C-reactive protein levels (CRP) in chronic periodontitis. *African Biochem Res*. 2009; 3: 150–153.
- ¹⁶² Nicoll D, McPhee SJ, Pignone M. Common laboratory tests: selection and interpretation. In: Nicoll D, McPhee SJ, Pignone M, editors: *Pocket Guide to Diagnostic Tests*. 4th edition. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill. 2004; 57.
- ¹⁶³ Bäck M, Hansson GK. Anti-inflammatory therapies for atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. 2015; 12: 199-211.
- ¹⁶⁴ Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently health men. *N Engl J Med*. 1997; 336: 973-9.
- ¹⁶⁵ Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to predictive value of total and hdl cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation*. 1998; 97: 2007-11.

¹⁶⁶ Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other marker of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000; 342: 836-43.

¹⁶⁷ Mendall MA, Strachan DP, Butland BK, Ballam L, Morris J, Sweetnam PM, Elwood PC.

C-reactive protein: relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. *Eur Heart J.* 2000; 21: 1584-90.

¹⁶⁸ Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, Hutchinson WL, Pepys MB. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-age men. *Circulation.* 1999; 99: 237-42.

¹⁶⁹ Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GH, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2004; 350: 1387-97.

¹⁷⁰ Ridker PM, Wilson PWF, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation.* 2004; 109: 2818-25.

¹⁷¹ Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation.* 2003; 107: 363-69.

¹⁷² Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome: more than the sum of its parts? *Circulation.* 2003; 108: 1546-51

¹⁷³ Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, Caligiuri G, Rebuffi AG, Buffon A, Summaria F, Ginnetti F, Fadda G, Maseri A. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation.* 1999; 99: 855-60.

-
- ¹⁷⁴ Leng WD, Zeng XT, Kwong JS, Hua XP. Periodontal disease and risk of coronary heart disease: an updated meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cardiol.* 2015; 201: 469–72.
- ¹⁷⁵ Madianos PN, Bobetsis GA, Kinane DF. Is periodontitis associated with an increased risk of coronary heart disease and preterm and/or low birth weight births? *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 22–36.
- ¹⁷⁶ Janket SJ, Baird AE, Chuang SK, Jones JA. Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 95: 559–69.
- ¹⁷⁷ Scannapieco FA, Bush RB, Paju S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; 8: 38–53.
- ¹⁷⁸ Khader YS, Albashaireh ZS, Alomari MA. Periodontal diseases and the risk of coronary heart and cerebrovascular diseases: a meta-analysis. *J Periodontol* 2004; 75: 1046–53.
- ¹⁷⁹ Carrizales-Sepúlveda EF, Ordaz-Farías A, Vera-Pineda R, Flores-Ramírez R. Periodontal Disease, Systemic Inflammation and the Risk of Cardiovascular Disease. *Heart Lung Circ.* 2018; 27: 1327-34.
- ¹⁸⁰ Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, Freeman M, Helfand M. Periodontal disease and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. *J Gen Intern Med.* 2008; 23: 2079–86.
- ¹⁸¹ Bahekar AA, Singh S, Saha S, Molnar J, Arora R. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis. *Am Heart J.* 2007; 154: 830–7.

-
- ¹⁸² Mustapha IZ, Debrey S, Oladubu M, Ugarte R. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2007; 78: 2289–302.
- ¹⁸³ Lam YY, Peterson CM, Ravussin E. Resveratrol vs. calorie restriction: data from rodents to humans. *Exp Gerontol.* 2013; 48: 1018-24.
- ¹⁸⁴ Stein S, Lohmann C, Schafer N, Hofmann J, Rohrer L, Besler C and Rothgiesser KM, et al. SIRT1 decreases Lox-1-mediated foam cell formation in atherogenesis. *Eur Heart J.* 2010, 31: 2301-09.
- ¹⁸⁵ Mattagajasingh I, Kim CS, Naqvi A, Yamamori T, Hoffman TA, Jung SB, DeRicco J, Kasuno K, Irani K. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104: 14855-60.
- ¹⁸⁶ Allard JS, Heilbronn LK, Smith C, Hunt ND, Ingram DK, Ravussin E; Team PC, de Cabo R. In vitro cellular adaptations of indicators of longevity in response to treatment with serum collected from humans on calorie restricted diets. *PLoS One.* 2008; 3: e3211.
- ¹⁸⁷ Tomofuji T, Yamamoto T, Tamaki N, Ekuni D, Azuma T, Sanbe T, Irie K, Kasuyama K, Umakoshi M, Murakami J, Koikeguchi S, Morita M. Effects of obesity on gingival oxidative stress in a rat model. *J Periodontol.* 2009; 80: 1324-9.
- ¹⁸⁸ Yang Z, Meng Q, Zhao Y, Han R, Huang S, Li M, Wu X, Cai W, Wang H. Resveratrol Promoted Interferon- α -Induced Growth Inhibition and Apoptosis of SMMC7721 Cells by Activating the SIRT/STAT1. *J Interferon Cytokine Res.* 2018; 38: 261-71.
- ¹⁸⁹ Casati MZ, Algayer C, Cardoso da Cruz, Ribeiro FV, Casarin RC, Pimentel SP, Cirano FR.

Resveratrol decreases periodontal breakdown and modulates local levels of cytokines during periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2013; 84: 58–64.

¹⁹⁰ Corrêa MG, Pires PR, Ribeiro FV, Pimentel SZ, Cirano FR, Napimoga MH, Casati MZ, Casarin RCV. Systemic treatment with resveratrol and/or curcumin reduces the progression of experimental periodontitis in rats. *PLoS One.* 2018; 13: e0204414.

¹⁹¹ Park YD, Kim YS, Jung YM, Lee SI, Lee YM, Bang JB, Kim EC. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide regulates interleukin (IL)-17 and IL-23 expression via SIRT1 modulation in human periodontal ligament cells. *Cytokine.* 2012; 60: 284-93.

¹⁹² Qu L, Yu Y, Qiu L, Yang D, Yan L, Guo J, Jahan R. Sirtuin 1 regulates matrix metalloproteinase-13 expression induced by Porphyromonas endodontalis lipopolysaccharide via targeting nuclear factor-κB in osteoblasts. *J Oral Microbiol.* 2017; 9: 1317578.

¹⁹³ Machida T, Tomofuji T, Ekuni D, Yamane M, Yoneda T, Kawabata K, Kataoka K, Tamaki N, Morita M. Longitudinal relationship between plasma reactive oxygen metabolites and periodontal condition in the maintenance phase of periodontal treatment. *Dis Markers.* 2014; 2014: 489292.

APÊNDICES



APÊNDICE 1

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº

SEXO: .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO:

BAIRRO

CIDADE e CEP

TELEFONE:

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE N.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO:

BAIRRO

CIDADE e CEP

TELEFONE

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Influência do tratamento da doença periodontal na Sirtuína 1 e na Lectina Ligadora de Manose em indivíduos com doença arterial coronária.

2. PESQUISADOR PRINCIPAL: Prof. Dr. Antônio Pádua Mansur

CARGO/FUNÇÃO: Professor Associado

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 40212

UNIDADE DO HCFMUSP: INCOR- Unidade de Coronariopatia com parceria com a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP)

PESQUISADOR AUXILIAR: Pérola Michelle Vasconcelos Caribé

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL CRO nº 104900

UNIDADE PARCEIRA: Faculdade de Odontologia da USP, Dr Giuseppe Alexandre Romito

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X

RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO

RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa que consiste em analisar a influência do tratamento da doença periodontal, que é uma doença que afeta as estruturas de suporte dos dentes, na doença arterial coronária, que é um problema que afeta os vasos sanguíneos do coração, através do estudo de um grupo de proteínas presentes em nosso corpo chamadas de Sirtuínas 1 e Lectina Ligadora de Manose.

A finalidade dessa pesquisa é a de que este conhecimento contribua no futuro para melhor condução no tratamento e/ou prevenção dessas doenças. Por isso, o benefício maior não é direto para você. Para realização desta pesquisa você participará de uma consulta odontológica inicial onde será realizada uma entrevista seguida por um exame clínico intrabucal, no qual serão avaliadas as estruturas que sustentam seus dentes e averiguada a presença/ou ausência de doença periodontal. Caso você tenha a doença periodontal receberá tratamento devido na Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) até que haja controle e/ou eliminação da doença. Será realizada também coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço para realização dos exames laboratoriais no início e no final do estudo. Essa coleta será realizada antes e após o tratamento da doença periodontal.

Esta pesquisa oferece riscos mínimos previsíveis, tais como: desconforto ao passar algum tempo com a boca aberta para a realização do exame intrabucal, para o tratamento e, na punção da amostra de sangue, pode-se sentir dor, sensação de desmaio e hematomas no local da retirada de sangue. A sua participação no estudo é voluntária e poderá, a qualquer momento, se retirar do estudo. É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento nas Instituições. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. As informações obtidas no estudo serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Os resultados desse estudo poderão ser apresentados em reuniões científicas e publicações. Entretanto, sua identidade será mantida confidencial. Os dados e o material coletado serão usados somente para esta pesquisa.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Este termo será assinado em duas vias e você receberá uma das vias originais. Os investigadores do estudo são o Dr Antonio de Padua Mansur e Pérola Michelle Vasconcelos Caribé, que podem ser encontrados no Instituto do Coração (InCor) no telefone (11) 2661-5387. E o Dr. Giuseppe Alexandre Romito, que pode ser encontrado no departamento de periodontia da Faculdade de Odontologia da USP (FOUSP) no telefone (11) 3091-7822. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo Influência da doença periodontal e aterosclerótica no sistema das sirtuínas: papel do tratamento periodontal.

Eu discuti com o Dr. Antonio P. Mansur e/ou Pérola Michelle Vasconcelos Caribé sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável pelo projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____