

Revisiones Bibliográficas:

INFLUENCIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL SOBRE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS Y LOS NIVELES DE PROTEÍNA C REACTIVA

Recibido para arbitraje: 09/11/2009

Aceptado para publicación: 29/04/2010

Ana Luiza Vanzato Carrareto (1), Eliane Marçon Barroso (1), Juliana Rico Pires (2), Benedicto Egbert Corrêa de Toledo (2), Fernando Salimon Ribeiro (2), Elizangela Partata Zuza (2).

1. Mestranda del Curso de pos-graduación en Ciencias Odontológicas del Centro Universitario de la Fundación Educacional de Barretos (UNIFEB).
2. Profesor doctor investigador del Curso de pos-graduación en Ciencias Odontológicas del Centro Universitario de la Fundación Educacional de Barretos (UNIFEB).

ABSTRACT

Periodontitis is a chronic inflammatory disease that is related with some systemic alterations. The severity of the inflammation in the periodontal tissues has been associated with a low-grade measurable systemic inflammation, and some studies have suggested an increase in the C-reactive protein levels and in number of white blood cells in patients with periodontal diseases. The red blood cells also could be affected by periodontitis with trends toward anemia. There are still controversies in relation to the direct influence of periodontal diseases in the occurrence of systemic inflammations. Thus, the aim of this study was to accomplish a literature review in order to verify the possible influence of the periodontal disease on blood cells and C-reactive protein levels.

Keywords: periodontal diseases, blood cells, C-reactive protein, inflammation.

RESUMEN

La Periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica que está relacionada con algunas alteraciones sistémicas. La gravedad de la inflamación de los tejidos periodontales ha sido asociada a una inflamación sistémica considerada de bajo grado y, algunos estudios han sugerido que hay un aumento en los niveles de proteína C-reactiva y en el número de leucocitos de la sangre en pacientes periodontalmente comprometidos. Las células de la serie roja de la sangre también podrían verse afectadas por la presencia de periodontitis, influyendo así en la aparición de anemias. A pesar de eso, aún hay controversias en hasta qué punto las enfermedades periodontales podrían influenciar de forma directa en la aparición de las inflamaciones sistémicas. De esa forma, el objetivo de este trabajo fue realizar una revisión de literatura para verificar la posible influencia de la enfermedad periodontal sobre las células sanguíneas y los niveles de proteína C-reactiva.

Palabras-clave: enfermedad periodontal, células sanguíneas, proteína c-reactiva, inflamación.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una de las enfermedades inflamatorias crónicas más comunes que acomete a los seres humanos, destruyendo los tejidos de soporte de los dientes (1). Gran parte de la población adulta se ve afectada por las formas de la enfermedad, representadas respectivamente por 40% y 15% (2,3). A pesar de que las enfermedades periodontales son infecciones localizadas en la cavidad bucal, la inter-relación entre periodontitis y enfermedades sistémicas podría explicarse por la invasión bacterias y otros microorganismos en el tejido periodontal, que tendrían acceso directo a la circulación sanguínea,

originándose de este modo una bacteriemia (4). Posiblemente, las bacteremias ocurran en lesiones crónicas periodontales en fase activa y, en abscesos en proceso de cronificación o agudización.

El elevado número de patógenos bucales, lipopolisacáridos (LPSs) y mediadores solubles relacionados a la patogénesis de la inflamación local podrían ocasionar el inicio de un proceso inflamatorio general, perjudicando la salud de los individuos (5). Recientemente, el enfoque de la relación entre enfermedades periodontales y sistémicas ha recibido la denominación de medicina periodontal (6). Algunos estudios sugieren que la periodontitis resultaría en una inflamación orgánica de bajo grado, además de un aumento en el número de células blancas sanguíneas y de proteína C-reactiva (7-11).

Pacientes con periodontitis generalizada presentan considerable aumento en el número de leucocitos (7,0 109/L), en comparación a los grupos con periodontitis localizada (6,0 109/L) y control saludable (5,8 109/L). Así, se sugiere que el aumento de marcadores inflamatorios, resultantes de la presencia de enfermedad periodontal, podrían aumentar potencialmente la actividad inflamatoria en lesiones ateroscleróticas y el riesgo a eventos cardíacos o cerebrovasculares (11). Son pocos los estudios publicados en los que se han verificado variaciones en los niveles sanguíneos de células blancas en individuos con periodontitis y aún así, los resultados son contradictorios (11-13). Las células de la serie roja de la sangre también podrían ser afectadas por la presencia de periodontitis, influenciando en la aparición de anemias (14).

También es importante destacar que la Proteína C-Reactiva (PCR) puede ser considerada como un biomarcador de inflamación sistémica y, de acuerdo con la Asociación América de Corazón (American Heart Association) (15) debe ser interpretada como factor de riesgo a las enfermedades cardiovasculares (16). Frente a una inflamación o infección, la PCR es producida por los hepatocitos en la respuesta de fase aguda (17). Se ha demostrado en algunos estudios que el nivel sérico de PCR es más elevado en individuos con enfermedad periodontal que en pacientes no portadores de periodontitis (10,18). Los LPSs libres en la sangre podrían activar los leucocitos y las plaquetas, o hasta fijarse en el endotelio. Receptores presentes en monocitos, macrófagos y neutrófilos poseen alta afinidad por proteínas plasmáticas, resultando en una activación celular y producción de citocinas que llevan a la respuesta de fase aguda y producción de PCR (19).

Se ha sugerido que el control de la infección periodontal local con tratamientos adecuados podría reducir significativamente la intensidad del proceso inflamatorio y los niveles sistémicos de PCR, pero hay una gran variabilidad entre los individuos estudiados (20). Además de eso, los beneficios del tratamiento periodontal asociado a la mejoría de la inflamación sistémica deben aclararse mejor. Frente a tales consideraciones, el objetivo de este estudio fue verificar la posible influencia de la enfermedad periodontal sobre las células sanguíneas y los niveles de proteína C-reactiva en la literatura corriente.

REVISIÓN DE LA LITERATURA Y DISCUSIÓN

Enfermedad Periodontal y Células Sanguíneas

Considerando que la periodontitis es una enfermedad infecciosa y de respuesta inflamatoria (21,22), se ha investigado en muchos estudios sobre la interacción entre bacterias patógenas y la respuesta del hospedero. Se identificaron bacterias patógenas y se correlacionaron con diversas formas de enfermedad periodontal (23,24). Bacterias y otros microorganismos podrían invadir áreas de ulceración del epitelio de la bolsa periodontal, teniendo acceso a la circulación sanguínea y dando así lugar a una bacteriemia (4,25).

Existe una relación entre la enfermedad periodontal y los eventos cardiovasculares (26-28). Esta relación puede explicarse debido a la infección periodontal conducir a la inflamación persistente de baja intensidad (27-29). El grado de aumento de los glóbulos blancos (leucocitos), especialmente los neutrófilos, pueden ser un marcador de mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (11,30-32), principalmente entre hombres (33).

Los neutrófilos son las principales células del sistema de defensa innato, principalmente contra las infecciones bacterianas en tanto que los defectos en la función neutrofílica estarían asociados a la destrucción periodontal. Fredriksson et al. (12) investigaron el efecto sistémico de la periodontitis y el hábito de fumar en el comportamiento de neutrófilos periféricos, evaluando 40 pacientes con compromiso periodontal y 43 controles saludables. Se verificó la generación de radicales libres de oxígeno liberados por neutrófilos, después de la activación de sus receptores (Fc) con *Staphylococcus aureus*. Se demostró que el hábito de fumar y la periodontitis influyeron en el aumento del número de neutrófilos y, que hubo una interacción entre el humo y la enfermedad periodontal.

Otro estudio que evaluó el efecto de la enfermedad periodontal en el aumento del número de células blancas sanguíneas fue el de Loos et al. (11). Los autores demostraron que pacientes con periodontitis generalizada tuvieron considerable aumento en el número de leucocitos ($7,0 \cdot 10^9/L$), en comparación a los grupos con periodontitis localizada ($6,0 \cdot 10^9/L$) y controle saludable ($5,8 \cdot 10^9/L$). Afirmaron que el aumento en el número de leucocitos podría ser explicado por el aumento de neutrófilos, que también estarían correlacionados al aumento en los niveles de interleucina-6 y proteína C-reactiva. Así, se sugirió que el aumento de marcadores inflamatorios, resultantes de la presencia de enfermedad periodontal, podría aumentar potencialmente la actividad inflamatoria en lesiones ateroscleróticas y el riesgo a eventos cardíacos o cerebrovasculares.

En otro estudio in vivo, Kowolik et al. (34) verificaron que la respuesta neutrofílica resultante de la acumulación de placa dental sería capaz de ocasionar un estado inflamatorio sistémico notable. En esta investigación, 23 pacientes sanos con edades comprendidas entre 18 y 25 años participaron de diferentes fases del experimento. Una fase inicial de higiene fue seguida por una fase experimental de 21 días, en la cual los voluntarios dejaban de practicar el procedimiento de higiene bucal, permitiendo la acumulación de placa dental (modelo experimental de gingivitis). El conteo de células blancas sanguíneas y puntuación de placa/ gingivitis fueron realizados en los días 0, 7 y 21. En los siguientes 28 días, los voluntarios volvieron a la práctica de higiene bucal y, finalmente, entraron en la fase final de más 21 días. Los autores demostraron que el número de neutrófilos fue significativamente mayor en los días 7 y 21 del período experimental en comparación al período control. El conteo total de leucocitos fue significativamente mayor a los 21 días. De esa forma, los autores sugieren que hay cierta relación entre las patologías bucales y sistémicas.

Los estudios también investigó el efecto sistémico de la terapia periodontal no quirúrgica en pacientes con enfermedad periodontal crónica (13) o con periodontitis agresiva (35). Marcaccini et al. (13) evaluaron clínicamente 25 pacientes con periodontitis crónica y 20 sujetos sanos y, tomaron muestras de sangre antes y después de 3 meses del tratamiento periodontal. Los autores no observaron diferencias en el conteo de leucocitos y neutrófilos entre pacientes enfermos y sanos, antes y después del tratamiento periodontal. Christan et al. (35) también se investigó la periodontitis agresiva y modificaciones en el conteo de células blancas sanguíneas en pacientes fumadores y no fumadores. Los parámetros clínicos periodontales y la tomas de muestra de sangre de sangre fueron realizados en los períodos iniciales y después de 3 meses del término de la terapia periodontal no quirúrgica. Se verificó que el tratamiento periodontal redujo significativamente el conteo de leucocitos, neutrófilos y plaquetas en pacientes no fumadores, mientras que en los fumadores, hubo una reducción significativa sólo en el número de plaquetas. Así, se verificó que la intervención terapéutica tuvo un efecto sistémico en pacientes con periodontitis agresiva, pero esta fue diferente entre fumadores y no fumadores.

Considerando que hay episodios recurrentes de bacteremia en los casos de periodontitis, algunos estudios confirmaron la hipótesis de que tanto los leucocitos como las plaquetas de estos pacientes estarían más sensibles a la estimulación por bacterias bucales, especialmente las periodontales, que en pacientes saludables. Así, Nicu et al. (36) cuantificaron la activación de plaquetas y leucocitos en la sangre total de 19 pacientes con enfermedad periodontal crónica y de 18 pacientes control, con y sin estímulo bacteriano por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Neutrófilos y monocitos fueron activados por todas las especies de microorganismos bucales que sirvieron de prueba, pero no se verificó

ninguna diferencia entre pacientes enfermos y sanos. El complejo plaqueta-leucocito fue más eficaz en la fagocitosis que en plaquetas libres de leucocitos, tanto para neutrófilos como para monocitos en ambos grupos estudiados. Se especula que plaquetas y neutrófilos activados puedan contribuir al aumento de la actividad aterotrombótica. El estudio de Papapanagiotou et al. (37) también mostró un aumento en el número de plaquetas en pacientes con periodontitis en comparación a los controles sanos.

En relación a las células rojas de la sangre, algunos autores indican que la enfermedad periodontal también puede tener influencia sobre esas células. Hutter et al. (14) evaluaron como los pacientes periodontalmente comprometidos podrían presentar signos de anemia, luego de tomar muestras de sangre. Se evaluaron 39 pacientes con periodontitis severa, 71 con periodontitis moderada y 42 controles sanos. Los hallazgos mostraron que pacientes con periodontitis tuvieron menor hematocrito, menores niveles de eritrocitos y hemoglobina y, mayores tasas de sedimentación de eritrocitos, cuando son comparados a los controles sanos. Este estudio mostró que la enfermedad periodontal ejerce un efecto sistémico, tendiendo a la condición de anemia. Se sugiere que este fenómeno pueda ser explicado por una depresión de la eritropoyesis.

El estudio de Erdemir et al. (38) también evaluó 45 voluntarios fumadores y 43 no fumadores, con el fin de verificar el efecto del humo en los parámetros clínicos y signos de anemia de pacientes con periodontitis crónica. Se observó que el número de eritrocitos y los niveles de hemoglobina, hematocrito e hierro fueron estadísticamente menores en fumadores que en no fumadores. De esa forma, se sugiere que el humo puede tener efecto sobre los signos de anemia en pacientes con periodontitis crónica.

A pesar de existir evidencias, aún hay pocos estudios han verificado la relación entre enfermedad periodontal y las modificaciones en el comportamiento de las células sanguíneas, tanto de la serie blanca como de la roja, principalmente en relación al efecto del tratamiento periodontal no quirúrgico sobre el estatus sistémico. De cierta forma, hay necesidad de realizar nuevos estudios clínicos longitudinales que evalúen el compromiso sistémico de pacientes periodontalmente comprometidos.

Enfermedad Periodontal y Proteína C-reactiva

Se sabe que la enfermedad periodontal es una patología crónica ocasionada por microorganismos específicos, que provocan una destrucción de los tejidos de soporte de los dientes, tales como, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. La respuesta inflamatoria podría ser desencadenada por la presencia de lipopolisacáridos (LPSs) o endotoxinas bacterianas que activarían el sistema inmunológico, llevando a la mayor liberación de biomarcadores inflamatorios y citocinas. El proceso de inflamación es capaz de causar daño tanto a los microorganismos como a los tejidos sanos, siendo la interleucina-1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y las prostaglandinas, los principales mediadores inflamatorios envueltos en ese proceso (39). Especialmente, la IL-1, IL-6 y el TNF- α presentan capacidad de estimular las células hepáticas a producir la proteína C-reactiva (PCR). De esa forma, se espera que en la vigencia de la enfermedad periodontal haya un aumento en los niveles séricos de PCR (40).

La proteína C-reactiva (PCR) fue descubierta en 1930 por Tilet & Francis, y desde entonces, viene siendo utilizada en la evaluación de pacientes con cuadros inflamatorios de cualquier naturaleza, haciendo parte de la respuesta no-específica de la fase aguda de la inflamación (41).

La cuantificación de este marcador bioquímico contribuye para la verificación de enfermedades orgánicas y para el monitoreo de la respuesta al tratamiento de infecciones e inflamaciones (20,42). La PCR es empleada en el diagnóstico de necrosis aguda, infecciones bacterianas y procesos inflamatorios (17), haciendo parte de la respuesta inmunológica innata. Desempeña diversas funciones, como opsonizar partículas extrañas, activar la vía clásica del sistema del complemento y, unirse a la cromatina de células necróticas. Aún así posee la capacidad de potencializar la producción de interleucinas (IL-2, IL-1, TNF- e IL-6) por macrófagos periféricos y monocitos sanguíneos (8).

Esa proteína puede ser influenciada por varios factores durante su análisis. Sus niveles aumentan con la

obesidad por existir más IL-6 en tejido adiposo, pero disminuyen con el uso de anti-inflamatorios. También se han verificado niveles más elevados en pacientes con mayor edad y, en mujeres en el período menstrual, por causa de la liberación de citocinas (42,43). Además, la presencia de esta proteína aumenta potencialmente el riesgo a las enfermedades cardiovasculares (44).

Un pequeño aumento sérico de la PCR ya es un indicador de riesgo a las arteriosclerosis, pero la causa de poco aumento en individuos aparentemente sanos aún no está bien aclarada (45). En general, la PCR está presente en pequeñas cantidades en la sangre de personas normales (<0,5 mg/dl), sin embargo, sus concentraciones pueden aumentar de cien a mil veces en la vigencia de procesos inflamatorios, permaneciendo indefinidamente altas (46). De acuerdo con la Academia Americana de Cardiología (15), la interpretación de los niveles de PCR debería ser realizada considerándose el riesgo a las enfermedades cardiovasculares, tales como: bajo riesgo (< 1 mg/l), medio riesgo (1 a 3mg/l) y alto riesgo (> 3 mg/l).

Diversos estudios han mostrado la relación entre enfermedad periodontal (DP), cardiovascular (DCV) y mediadores inflamatorios, incluyendo la PCR. En pacientes saludables, el nivel medio de PCR fue de 1,14 ug/ml, mientras que en aquellos que tenían tanto la DCV así como la DP, el nivel fue de 8,7 ug/ml (47). Además, otros autores también llegaron a la conclusión de que pacientes con DP y DCV presentaban mayor nivel sérico de PCR que los individuos saludables o con apenas una de las patologías (48).

Pacientes con periodontitis severa presentan un elevado nivel sérico de mediadores y marcadores inflamatorios, tales como proteína C-reactiva (PCR), fibrinógeno, interleucina 1 y 6 (IL-1 e IL-6), además de moderada leucocitosis (aumento en el número de glóbulos blancos) cuando se compararon con pacientes sin periodontitis. Además, hay una disminución en los niveles de los mediadores y marcadores de la fase aguda de la inflamación después de seis meses del término del tratamiento periodontal (49).

Se verificó, epidemiológicamente, que individuos con más de 10% de bolsas periodontales con profundidad mayor que 4 mm, mostraron un promedio de 4,5 mg/l en los niveles de PCR (10). Por el contrario, Yamazaki et al. (41) no encontraron relación entre la severidad de la enfermedad periodontal y el aumento de los niveles de PCR, sugiriendo que la enfermedad periodontal no afecta de forma significativa los niveles séricos de los marcadores sistémicos de la inflamación. A pesar de no haber sido verificada diferencia estadística, se observó una tendencia a disminuir los niveles de PCR después de la terapia periodontal y, los niveles de IL-6 y TNF- α no mostraron cambios significativos. Otros estudios demostraron una reducción en los niveles de PCR después de la terapia periodontal no-quirúrgica en pacientes con periodontitis (13,50-52).

En el año 2007, Tonetti et al. (28) evaluaron los niveles de marcadores inflamatorios en diversos períodos, esto es, 1, 7, 30, 60 y 180 días después de la terapia periodontal. El tratamiento periodontal condujo a una respuesta inflamatoria aguda sistémica de inmediato con una alteración de la función endotelial a corto plazo, pero hubo una reducción en los valores de los marcadores inflamatorios a partir del séptimo día después del tratamiento y, gran mejoría de la función endotelial. Mostraron de forma convincente que la PCR es consistentemente elevada en pacientes con periodontitis en comparación a los saludables, enfatizando el beneficio del tratamiento periodontal (16).

Es necesario destacar que la PCR es un biomarcador no-específico de la fase aguda, o sea, muchos estímulos potenciales pueden ser responsables por aumentos ligeros en sus niveles. Dentro de estos estímulos, se pueden incluir infecciones crónicas desconocidas y condiciones inflamatorias, como tabaquismo, obesidad y traumas diversos (53, 54). Hay evidencias que sugieren que la periodontitis provoca una respuesta de fase aguda, con aumento de los niveles de PCR y, que el tratamiento periodontal provocaría una disminución de sus niveles, pero estudios intervencionales controlados aún son escasos y son a menudo contradictorios. De esa forma, se sugiere que otras investigaciones sean realizadas a fin de investigar mejor las alteraciones de los marcadores sanguíneos, los cuales pueden estar directamente relacionados con las enfermedades cardiovasculares y patologías periodontales. La respuesta sistémica al tratamiento periodontal también debe ser mejor evaluada, ya que hay controversias en relación a los parámetros inflamatorios.

CONCLUSIÓN

La enfermedad periodontal ocasiona una inflamación sistémica notable, con aumento en el número de células blancas sanguíneas y en los niveles de proteína C-reactiva. Algunos estudios también sugieren una disminución en el número de células de la serie roja, llevando a la mayor ocurrencia de anemias en pacientes periodontalmente comprometidos.

REFERENCIAS

1. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; 366(9499): 1809-20.
2. Brown LJ, Oliver RC, Loe H. Evaluating periodontal status of US employed adults. *J Am Dent Assoc* 1990; 121(2):226-32.
3. Gjermo P. Epidemiology of periodontal diseases in Europe. *J Parodontol Implantol* 1998; 17(7): 111-21.
4. Rivieri GR, Weisz KS, Adams DF, Thomas DD. Pathogen-related oral spirochetes from dental plaque are invasive. *Infect Immun* 1991; 59(10): 3377-80.
5. Martos R, Márton I. Correlations between dental-oral infections and cardiovascular disease. *Fogorv Sz* 2008 101(3): 101-5.
6. Bezerra CFR, Amaral BA, Camelo FP, Aquino ARL, Seabra EG, Carreiro, AFP. O papel da proteína C trabalho na relação entre as enfermidades periodontais e cardiovasculares. *R Periodontia*, 2008; 18(1):7-13.
7. Kweider M, Lowe GDO, Murray GD, Kinane DF, McGowan DA. Dental disease, fibrinogen and white cellcount; links with myocardial infarction? *Scott Med J* 1993; 38(3): 73-4.
8. Ebersole J, Machen RL, Steffen M, Willman D. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol* 1997; 107(2):347-52.
9. Wakai K, Kawamura T, Umemura O, Hara Y, Machida J, Anno T, Ichihara Y, Mizuno Y, Tamakoshi A, Lin Y, Nakayama T, Ohno Y. Associations of medical status and physical fitness with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1999; 26(10): 664-72.
10. Slade GD, Offenbacher S, Beck JD, Heiss G, Pankow JS. Acute phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *J Dent Res* 2000; 79(1): 49-57.
11. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PME, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000; 71(10): 1528-34.
12. Fredriksson M, Figueredo CMS, Gustafsson A, Bergström KG, Asman BE. Effect of periodontitis and smoking on blood leukocytes and acute-phase proteins. *J Periodontol* 1999; 70(11): 1355-1360.

13. Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MCP, de Souza AM, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Novaes Jr AB, Gerlach RF. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol* 2009; 80(4): 594-602.
14. Hutter JW, Van der Velden U, Varoufaki A, Huffels RAM, Hoek FJ, Loos BG. Lower numbers of erythrocytes and lower levels of hemoglobin in periodontitis patients compared to control subjects. *J Clin Periodontol* 2001; 28(10): 930-6.
15. American Heart Association (AHA). International Cardiovascular disease statistics. Disponible en: <http://www.americanheart.org> (acceso el 11/08/2002).
16. Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 2008; 35: (4) 277-90.
17. Lima JCC, Silva AMS, Lima DS. A proteína c trabajo como marcador de riesgo na enfermedad periodontal. *Atheros*, 2002; 13: 20-2.
18. Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambom J, Nardin EM Periodontal infections contribute to elevated systemic C- reactive protein level. *J Periodontol* 2001; 72(9): 1221-6.
19. Kinane DF, Lowe GDO. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. *Periodontology* 2000, 2000; 23(1) 121-6.
20. D'Aiuto F, Ready D, Tonetti MS. Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodont Res* 2004(a); 39(4):236-41.
21. Socransky SS. Microbiology of periodontal disease - present status and future considerations. *J Periodontol* 1977; 48(9): 497-504.
22. Theilade, E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1986; 13(10): 905-11.
23. Slots J, Genco RJ. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. *J Dent Res* 1984; 63(3): 412-21.
24. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25(2): 134-44.
25. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76(4): 2106-15.
26. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996; 67(10):1123-37.
27. Leivadaros E, Van der Velden U, Bizzarro S, Ten Heggeler JM, Verdes VE, Hoek FJ, Nagy TO, Scholma J, Bakker SJ, Gans RO, Ten Cate H, Loos BG. A pilot study into measurements of markers of atherosclerosis in periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76(1):121-8.
28. 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. *The New England J Medicine*

2007; 356(9):911-20.

29. D'Aiuto F, Parkar M, Nibali L, Suvan J, Lessem J, Tonetti MS. Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: Results from a randomized controlled clinical trial. *Am Heart J* 2006; 151(5):977-84.
30. Ensrud K, Grimm RH Jr. The white blood cell count and risk for coronary heart disease. *Am Heart J* 1992; 124(1):207- 13.
31. Kannel WB, Anderson K, Wilson PWF. White blood cell count and cardiovascular disease. Insights from the Framingham study. *JAMA* 1992; 267(9):1253-6.
32. Phillips AN, Neaton JD, Cook DG, Grimm RH, Shaper AG. Leukocyte count and risk of major coronary heart disease events. *Am J Epidemiol* 1992; 136(1):59-70.
33. Sweetnam PM, Thomas HF, Yarnell JW, Baker IA, Elwood PC. Total and differential leukocyte counts as predictors of ischemic heart disease: the Caerphilly and Speedwell studies. *Am J Epidemiol* 1997; 145(5):416-21.
34. Kowolik MJ, Dowsett SA, Rodriguez J, De La Rosa M, Eckert GJ. Systemic Neutrophil Response Resulting From Dental Plaque Accumulation. *J Periodontol* 2001; 72(2):146-51.
35. Christan C, Dietrich T, Hägewald S, Kage A, Bernimoulin J-P. White blood cell count in generalized aggressive periodontitis after non-surgical therapy. *J Clin Periodontol* 2002; 29(3):201-6.
36. Nicu EA, Van der Velden U, Nieuwland R, Everts V, Loos BG. Elevated platelet and leukocyte response to oral bacteria in periodontitis. *J Thromb Haemost* 2009; 7(1): 162-70.
37. Papapanagiotou D, Nicu EA, Bizzarro S, Gerdes VE, Meijers JC, Nieuwland R, van der Velden U, Loos BG. Periodontitis is associated with platelet activation. *Atherosclerosis* 2009;202(2):605-11.
38. Erdemir EO, Nalcaci R, Caglayan O. Evaluation of systemic markers related to anemia of chronic disease in the peripheral blood of smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *Eur J Dent* 2008; 2(2):102-9.
39. Matilla K, Vesanen M, Valtonen V. Effect of treating periodontitis on C-reactive protein levels: a pilot study. *BMC Infect Dis* 2002; 2:30-6.
40. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107(3): 499-511.
41. Yamazaki K, Honda T, Oda T, Ueki-Maruyama K, Nakajima T, Yoshie H, Seymour GJ. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. *J Periodont Res* 2005; 40(1) :53-58.
42. Pepys MB, Hirschfield GM,. C-reactive protein: a critical update.*J Clin Invest* 2003; 111(12): 1805-12.
43. Matt MP, Kluft C. Determinants of c-reactive protein concentration in blood. *Ital Heart* 2001;

2(3):189-195.

44. Joshipura KJ, Wand HC, Merchant At, Rimm EB. Periodontal disease and biomarkers related to cardiovascular disease. *J Dent Res* 2004; 83(2):151-155.
45. Saito T, Murakami M, Shimazaki Y, Oobayashi K, Matsumoto S, Koga T. Association Between Alveolar Bone Loss and Elevated Serum C Reactive Protein in Japanese Men. *J Periodontol* 2003; 74(12): 1741-6.
46. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest* 1993; 91(4): 1351-7.
47. Genco, R, Glurich I, Haraszthy V, Zambom J, Denardin E. Revisão geral dos fatores de riesgo para a enfermedad periodontal e implicações para o diabetes e enfermedad cardiovascular. I Simpósio internacional de medicina bucal. Aspecto periodontais e saúde sistêmica. Compendium de educação continuada em Odontologia 1998; 19 (1): 40-45.
48. Glurich I, Grossi S, Albani B, Ho A, Shan R, Zeid M, Baumann H;Genco RJ; De Nardin E. Systemic inflammation in cardiovascular and periodontal disease: comparative study. *Clin Diagn Lab Immunol.*2002; 9(2): 425-32.
49. D'Aiuto F, Parkar M, Andreaou G, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and atherogenesis: causal association or simple coincidence? *J Clin Periodontol* 2004 (b); 31(5):402-11.
50. Iwamoto Y, Nishimura F, Soga Y, Takeuchi K, Kurihara M, Takeuchi K et al. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum c - reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2003; 74(8):1231-1236.
51. D'Aiuto F, Parkar M, Andreeou G, Suvan J, Brelt PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and systemic inflammation: Control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res* 2004(c); 83(2):156-60.
52. D'Aiuto F, Nibaldi L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short- term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res* 2005; 84(3): 269-73.
53. Blake GJ, Ridker PM. High sensitivity C-reactive protein for predicting cardiovascular disease: an inflammatory hypothesis. *Eur Heart J* 2001; 22(5):349-352.
54. Florez, H., Castillo-Florez, S., Mendez, A., Casanova-Romero, P., Larreal-Urdaneta, C., Lee, D. & Goldberg, R. C-reactive protein is elevated in obese patients with the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 71(1): 92-100.