

UNIVERSIDADE SANTO AMARO
Especialização de Periodontia

BRUNA LOPES SALOMÃO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE PERIODONTITE E ALTERAÇÕES NO PERFIL
LIPÍDICO E DIÂMETRO DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE
(HDL)**

SÃO PAULO
2018

BRUNA LOPES SALOMÃO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE PERIODONTITE E ALTERAÇÕES NO PERFIL
LIPÍDICO E DIÂMETRO DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE
(HDL)**

“Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Lato Sensu* da Universidade Santo Amaro- UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Periodontia, sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Schmitutz Jahn.”

SÃO PAULO

2018

BRUNA LOPES SALOMÃO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE PERIODONTITE E ALTERAÇÕES NO PERFIL
LIPÍDICO E DIÂMETRO DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE
(HDL)**

Monografia apresentada para obtenção do título de Pós-Graduação em Periodontia da Universidade de Santo Amaro.

Data de Aprovação ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Prof. RICARDO SCHMITUTZ JAHN (Orientador)

Mestre em Odontologia (Unisa)

Doutor em Ciências (Unifesp)

Profa. CLÁUDIA RENATA TORRES (Examinadora)

Mestre em Saúde Materno-Gestacional (Unisa)

Prof. DANIEL JONAS LOWCZYK (Examinador)

Mestre em Periodontia (Unicastelo)

*Dedico aos meus pais Cristiano Salomão
e Eliana C. Ap. Lopes Salomão, que além da
impecável dedicação e amor, são sempre meus
exemplos de força, dignidade e fé.*

Agradecimentos

Inicialmente, agradeço a **Deus** pelas possibilidades que me apresentou no momento certo, fazendo com que eu chegasse à realização de um sonho. Serei eternamente grata por acreditar que estará sempre ao meu lado durante minha vida e no exercício desta admirada profissão.

À minha mãe, **Eliana C. Ap. Lopes Salomão**, por estar sempre comigo, cuidando dos detalhes, me ajudando em todos os momentos, tanto pessoal, quanto profissional e me transmitindo toda sua força. Você é sem dúvidas a melhor mãe que Deus poderia ter me dado, obrigada por todo sacrifício que faz por mim. Te amo!

Ao meu pai, **Cristiano Salomão**, por sempre acreditar na minha capacidade, por todos os conselhos ditos e por ser um exemplo de determinação e coragem. Tenho muita sorte em te chamar de pai. Te amo!

Um muito obrigado ao meu irmão, **Renan Lopes Salomão**, por me ajudar nas horas que preciso, por inexplicavelmente me alegrar todos os dias e por ser essa pessoa humilde e alegre, tenho muito orgulho de você. Posso apenas dizer: Re, te amo!

Ao meu noivo, **Adolfo Pasqual**, que também fez parte dessa realização, muito obrigada por todo auxílio, companheirismo, incentivo e apoio. Agradeço pela paciência e pelo empenho para me ajudar. Que Deus nos abençoe sempre em nossas vidas e em nossa profissão. Te amo demais!

À minha **família**, única e especial, que também fazem com que assim eu me sinta. Obrigada por acompanhar a minha trajetória de vida e acreditar que posso realizar meus sonhos e alcançar meus objetivos. Agradeço pela força!

Ao orientador, **Prof. Dr. Ricardo Schmitutz Jahn**, pela dedicação como mestre e pelo empenho na orientação deste trabalho. Agradeço por me apresentar uma das vertentes mais apaixonantes da odontologia, a periodontia, e me fazer acreditar que

sou capaz de alcançar meus objetivos e conquistar a realização profissional com excelência.

Ao **Prof. Daniel Jonas Lowczyk**, pelas excelentes aulas, amizade e principalmente pelos puxões de orelha, pode ter certeza que sou muito grata a sua pessoa.

À **Profa. Cláudia Renata Torres**, por sempre estar disposta a ajudar, por todos os ensinamentos e pelo exemplo de mulher, saiba que te admiro muito. Se algum dia for metade da profissional que a senhora é, já estarei realizada na odontologia.

À **Profa. Dra. Carmen G. C. de Matos Vinagre**, um obrigado especial pela oportunidade, pelo carinho e por acreditar na minha capacidade para execução deste trabalho.

À minha dupla nas cirurgias, **Keila Ilse C. Brito**, a quem admiro por sua trajetória, conquistas e força, agradeço pela amizade e por esses dois anos que compartilhamos juntas.

RESUMO

A doença periodontal crônica, ou periodontite, é uma doença progressiva e inflamatória e está relacionada a maus hábitos de higiene bucal, sendo bastante prevalente na população adulta. A periodontite crônica é associada ao acúmulo de placa e cálculo e geralmente tem um curso de progressão de lento a severo. Tem sido relacionada a diversas alterações sistêmicas, entre elas as dislipidemias, que são fatores de risco conhecidos para a aterosclerose. A presença de periodontite está relacionada à diminuição dos níveis plasmáticos da lipoproteína de alta densidade (HDL), uma lipoproteína antiaterogênica que possui função antiinflamatória e antioxidante, sendo que seu diâmetro está relacionado a essas funções protetoras. Além disso, a doença tem sido relacionada ao aumento dos níveis plasmáticos de LDL-c e triglicérides. Este foi o primeiro estudo com o objetivo de avaliar a influência da doença periodontal nos níveis de lípidos e lipoproteínas plasmáticas e no diâmetro da HDL. Para isso, foram avaliadas as concentrações plasmáticas de colesterol total, colesterol de HDL, de LDL e VLDL e triglicérides, pelo método enzimático colorimétrico, bem como o diâmetro da HDL por *laser light scattering* em 13 pacientes com periodontite e 8 indivíduos controles. Nos resultados obtidos, pacientes portadores de periodontite não apresentaram diferenças significativas nas concentrações de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c, triglicérides e diâmetro de HDL quando comparados aos indivíduos controles.

Palavras-chave: Periodontite. Doença Periodontal Crônica. Lipoproteínas. HDL.

ABSTRACT

Chronic periodontal disease, or periodontitis, is a progressive and inflammatory disease which is related with bad buccal hygiene habits, being very prevalent in the adult population. The chronic periodontitis is associated with the accumulation of plaque and calculus and usually has a progression course from slow to severe. It has been related to several systemic changes, among them dyslipidemias, which are known atherosclerosis risk factors. The presence of periodontitis is related with the decrease of plasmatic levels of high density lipoprotein (HDL), an antiatherogenic lipoprotein that has anti-inflammatory and antioxidant functions, being that its diameter is related to those protective functions. Besides that, the disease has been related to the increase of the plasmatic levels of c-LDL and triglycerides. This was the first study to try to relate changes in HDL diameter with presence of periodontitis. The objective of the present study was to evaluate the influence of periodontal disease in the plasmatic levels of lipids and lipoproteins and in the HDL diameter. For this, plasmatic concentrations of total cholesterol, HDL cholesterol, LDL and VLDL and triglycerides were evaluated by the colorimetric enzymatic method, as well as the HDL diameter by *laser light scattering* in 13 patients with periodontitis and 8 control subjects. In the results obtained, patients with periodontitis didn't present significant differences in the concentrations of total cholesterol, HDL-c, LDL-c, VLDL-c, triglycerides and HDL diameter when compared to controls.

Keywords: Periodontitis. Chronic Periodontal Diseases. Lipoproteins. HDL.

Lista de Figuras

Figura 1: Periodonto Saudável	14
Figura 2: Periodontite Crônica.....	14
Figura 3: Composição da HDL.....	17

Lista de Tabelas

Tabela 1: Dados comparativos entre portadores de periodontite e indivíduos controle.....	24
Tabela 2: Características antropométricas e dados clínicos dos pacientes com periodontite e indivíduos controle.....	26
Tabela 3: Determinação do perfil lipídico de indivíduos portadores de periodontite e indivíduos controle.....	27
Tabela 4: Determinação do diâmetro da HDL em portadores de periodontite e indivíduos controle.....	27

Lista de Abreviaturas

DCV	Doenças cardiovasculares
HDL	Lipoproteína de alta densidade
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
ERO	Espécies reativas de oxigênio
PCR	Proteína C reativa
apo B-100	Apolipoproteína B-100
NOS	Óxido nítrico sintetase
NO	Óxido nítrico
apos	Apolipoproteínas
apo E	Apolipoproteína E
apo-IV	Apolipoproteína-IV
apo A-V	Apolipoproteína A-V
apo J	Apolipoproteína J
apo C-I	Apolipoproteína C-I
apo C-II	Apolipoproteína C-II
apo C-III	Apolipoproteína C-III
apo A-I	Apolipoproteína A-I
LCAT	lecitina-colesterol-acil-transferase
SR-BI	scavenger receptor classe B tipo I
QM	Quilomícron
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
LLP	Lipase lipoprotéica
PLTP	Proteína de transferência de fosfolípidos
CETP	Proteína transportadora de colesterol ester

apo B	Apolipoproteína B
LH	Lipase hepática
LLS	Laser light scattering
IMC	Índice de massa corpórea
NIC	Níveis de inserção clínica
PEG 8000	Polietilenoglicol 8000
PDI	Polydispersity index

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Periodontite e Dislipidemia	13
1.2 Alterações no Metabolismo de Lipoproteínas Plasmáticas e Aterosclerose.....	15
1.3 Lipoproteína de Alta Densidade	16
2 OBJETIVO.....	21
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	22
3.1 Casuística	22
3.2 Métodos	23
3.2.1 Avaliação da doença periodontal.....	23
3.2.2 Determinação das concentrações plasmáticas de lípides e lipoproteínas.....	24
3.2.3 Determinação do diâmetro da HDL.....	24
3.2.4 Análise Estatística.....	25
4 RESULTADOS.....	26
4.1 Características antropométricas e clínicas dos grupos estudados.....	26
4.2 Concentrações plasmáticas de lípides e lipoproteínas.....	26
4.3 Diâmetro de HDL.....	27
5 DISCUSSÃO.....	28
6 CONCLUSÃO.....	30
7 REFERÊNCIAS.....	31
8 ANEXOS.....	37
Anexo A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	37
Anexo B: Ficha de Anamnese Clínica.....	39
Anexo C: Aprovação do Comitê de Ética.....	41

1. INTRODUÇÃO

Vários estudos têm demonstrado uma associação entre periodontite e doenças cardiovasculares (DCV), independente de fatores de risco conhecidos de aterosclerose¹⁻³. A doença periodontal pode causar várias alterações sistêmicas no organismo⁴⁻⁶, com um aumento em mediadores de inflamação, proteínas e lípidos plasmáticos. Esses fatores explicam, pelo menos em parte, a provável associação entre periodontite e a suscetibilidade a algumas doenças sistêmicas, como o risco aumentado de DCV. Os lípidos, lipoproteínas e apolipoproteínas plasmáticas possuem um importante papel no processo inflamatório. Neste sentido, a dislipidemia, importante fator de risco de aterosclerose, tem sido relacionada à periodontite^{4,7-10}. Entre as alterações lipídicas envolvidas, níveis plasmáticos de lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína que apresenta função antiinflamatória e antioxidante, foram associados à periodontite^{11,12}.

1.1 Periodontite e Dislipidemia

A periodontite é definida como “uma doença inflamatória dos tecidos de suporte dos dentes, causada por microorganismos, resultando em uma destruição progressiva do ligamento periodontal e osso alveolar, com formação de bolsa, retração ou ambas”. São inflamações crônicas e progressivas, caracterizadas clinicamente por inflamação gengival, sangramento à sondagem, diminuição da resistência dos tecidos periodontais à sondagem (bolsas periodontais), perda de inserção gengival e do osso alveolar. As características variáveis incluem hiperplasia ou recessão gengival, exposição da furca, mobilidade e inclinação dentárias aumentadas e esfoliação dos dentes. E possuem como etiologia primária a presença de bactérias específicas residentes no biofilme dentário, associada à deficiência no mecanismo de defesa do paciente. Com a superfície dentária livre do epitélio protetor, ocorre acúmulo de placa bacteriana e destruição dos tecidos pela proliferação de microrganismos patogênicos¹³. A doença periodontal severa afeta estruturas mais profundas, causando reabsorção das fibras colágenas do ligamento periodontal, reabsorção do osso alveolar, abscessos, aumento da profundidade das bolsas, maior mobilidade dentária e perda de dentes¹⁴.

A periodontite crônica é caracterizada por uma inflamação dos tecidos de sustentação dos dentes, a qual resulta em destruição do ligamento periodontal e perda do osso adjacente que sustenta os dentes. Essa inflamação afeta um grande número de indivíduos, especialmente adultos, e promove uma exposição contínua a bactérias, endotoxinas (lipopolissacarídeos) e outros produtos bacterianos tanto no tecido periodontal como na circulação sanguínea. Isso pode induzir reações inflamatórias locais e sistêmicas. Bacteremias transitórias e recorrentes, que podem ser causadas pela infecção periodontal, levam a uma intensa resposta inflamatória local e sistêmica, promovendo modificações no organismo.



Figura 1: Periodonto Saudável



Figura 2: Periodontite Crônica

A doença periodontal crônica, bastante prevalente na população adulta, tem sido relacionada com diversas alterações sistêmicas, entre elas as dislipidemias, que são fatores de risco conhecidos para a aterosclerose.

As concentrações de colesterol total e colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) encontram-se aumentadas em indivíduos com doença periodontal^{4,7}. Moeintaghavi et al (2005)⁸ também encontraram uma associação entre hiperlipidemia e periodontite em indivíduos saudáveis. Foi sugerido que anticorpos produzidos contra bactérias periodontais podem reagir com LDL oxidada aumentando a captação de colesterol por macrófagos e dessa maneira promovendo a progressão da aterosclerose¹⁵.

A presença de periodontite está relacionada à diminuição da HDL, que possui um importante papel antiaterogênico¹¹. É de extrema importância não somente a avaliação dos níveis plasmáticos de HDL, como também de sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória em indivíduos com periodontite.

Vários estudos mostram que a periodontite induz a um estresse oxidativo no tecido periodontal¹⁶. A suscetibilidade à periodontite pode ser devido, pelo menos em parte, à presença de neutrófilos reativos na circulação sanguínea, os quais são atraídos para o tecido periodontal, gerando níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio (ERO)¹⁷.

O estresse oxidativo em pacientes com periodontite parece não estar confinada apenas aos tecidos periodontais. Manifestações sistêmicas de aumento dos processos oxidativo e inflamatório tem sido detectados nesses pacientes, demonstrando que a inflamação periodontal pode levar à inflamação sistêmica. Além disso, uma menor capacidade antioxidante¹⁸ e níveis mais altos de citocinas e proteína C reativa (PCR)^{19,20} foram detectadas em pacientes com periodontite.

1.2 Alterações no Metabolismo de Lipoproteínas Plasmáticas e Aterosclerose

Dentre os fatores de risco de aterosclerose, a dislipidemia apresenta um papel central, sendo que o aumento dos níveis plasmáticos de colesterol, hipercolesterolemia, constitui a principal causa da aterosclerose^{21,22}. A lipoproteína de baixa densidade (LDL) é o principal fator lipídico de risco de aterosclerose. Diversos estudos epidemiológicos mostram que existe uma correlação positiva entre colesterol de LDL e o risco de doença aterosclerótica, principalmente doença arterial coronária²³⁻²⁵.

Defeitos no receptor ou na apolipoproteína (apo) B-100 dificultam a captação celular da partícula, resultando na remoção plasmática deficiente da mesma e conseqüente aumento da concentração plasmática de colesterol de LDL. Isso faz com que a LDL permaneça mais tempo na circulação sanguínea, aumentando a chance de ser oxidada. A relação da lesão endotelial com o processo aterosclerótico está ligada à oxidação da LDL. A LDL oxidada pode ser citotóxica, e devido a isso, pode lesar a parede endotelial, estimular as células vasculares à produção de citocinas que promovem o recrutamento de monócitos e sua migração para o espaço subendotelial²⁵. Outra influência prejudicial da LDL oxidada na função endotelial é sua capacidade de reduzir a vasodilatação endotélio dependente, por inibição da atividade

da óxido nítrico sintase (NOS) e redução de óxido nítrico (NO), além de aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio^{26,27}. Uma vez oxidada, a LDL não pode mais ser reconhecida pelos receptores celulares específicos e acaba sendo removida por macrófagos, através de receptores *scavenger*. Ocorre acúmulo de colesterol nessas células, que se transformam em células espumosas, as quais podem dar início ao processo aterogênico²⁵.

A HDL é uma lipoproteína antiaterogênica por remover o colesterol da parede arterial, inibir a oxidação da LDL e ter uma importante função anti-inflamatória²⁸, diminuindo as moléculas de adesão, que sabidamente sequestram monócitos circulantes para a íntima arterial, que se transformarão em macrófagos, os quais serão ativados pela LDL oxidada e irão liberar citocinas. Inflamações sistêmicas agudas ou locais crônicas podem induzir alterações nas concentrações plasmáticas de citocinas e hormônios, que determinam distúrbios no metabolismo de lípidos²⁹ e estão relacionadas com DCV. A similaridade entre a patologia vascular induzida por bactéria e a história natural da aterogênese sugere que infecções de origem desconhecida podem contribuir para DCV em adição a influências genéticas e dietéticas³⁰. Os quadros de inflamação crônica bucal têm sido associados tanto com dislipidemia como com uma maior incidência de aterosclerose.

Ao contrário da LDL, a lipoproteína de alta densidade (HDL) é um importante fator de proteção contra doenças ateroscleróticas²⁸ e tanto as concentrações plasmáticas como alguns aspectos qualitativos dessa lipoproteína, estão relacionados à menor incidência de aterosclerose.

1.3 Lipoproteína de Alta Densidade

A HDL é produzida pelo fígado e intestino, sendo, sintetizada principalmente no fígado, é lançada na circulação com a forma discóide, contendo colesterol, fosfolípidos e apolipoproteínas (apos), apo-E, apo-IV, apoA-V, apoJ, apoC-I, apoC-II e apoC-III, sendo a mais importante a apo A-I³¹⁻³³. A meia-vida plasmática da HDL é de cinco a seis dias. Dependendo do seu conteúdo lipídico, da quantidade de proteínas e do tamanho, a HDL pode ser dividida em cinco subclasses: HDL₁, HDL₂, HDL₃, HDL₄ e HDL₅, sendo que as de maiores concentrações no plasma são as

HDL₂ e HDL₃, conforme demonstrado quando separadas por ultracentrifugação³⁴. A HDL nascente é uma partícula instável e pronta para adquirir lípides³⁵. A lipidação inicial da HDL nascente ocorre na membrana celular, que remove fosfolípidos e colesterol de tecidos hepáticos e extra-hepáticos³⁶, resultando na formação da HDL discóide. Depois da captação do excesso de colesterol das células de tecidos periféricos, e da superfície das lipoproteínas ricas em triglicérides, a HDL discóide é convertida em uma partícula menor, a HDL₃, com forma esférica e madura.

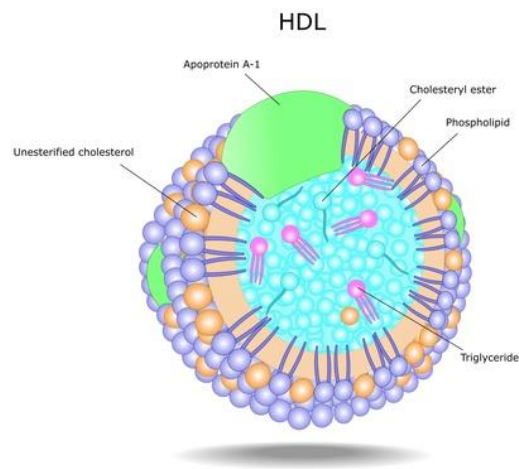


Figura 3: Composição da HDL

Fonte: <https://ghr.nlm.nih.gov/art/large/high-density-lipoprotein-hdl.jpeg?ow>

A HDL₃ é o substrato da enzima lecitina-colesterol-acil-transferase (LCAT), sintetizada e secretada pelo fígado e que circula em associação com a HDL. A LCAT é ativada pelas apo A-I, A-IV, E e C-I e esterifica o colesterol recebido pela pré-β-HDL. A LCAT, ativada pela apo A-I presente na lipoproteína HDL, esterifica o colesterol da HDL₃ por meio de uma transferência de um ácido graxo da posição-2 do fosfolípido (lecitina) para o grupo hidroxila da molécula de colesterol³⁷.

A HDL₃ continua a receber colesterol e fosfolípidos de membranas celulares num processo via receptor *scavenger* classe B tipo I (SR-BI), presente na glândula adrenal, no fígado e nos monócitos. Neste mecanismo existe uma interação dos componentes lipídicos da HDL com a superfície celular, favorecendo a difusão de colesterol através do receptor SR-BI, facilitando a transferência de colesterol livre da

membrana plasmática para a partícula acceptora ³⁸. Através da lipólise dos QM e da VLDL pela LLP, a HDL₃ recebe colesterol livre e fosfolípidos, processo facilitado pela proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP). A HDL₃ é convertida em HDL₂, por meio da LCAT³⁹.

Por meio da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP), o colesterol esterificado é transferido da HDL₂ para as demais lipoproteínas que contêm apo B. As lipoproteínas ricas em triglicérides, por sua vez transferem triglicérides para a HDL₂. A extensão da transferência depende, entre outros fatores da concentração de cada componente lipídico na lipoproteína doadora⁴⁰ e da quantidade de lipoproteínas aceptores. Os triglicérides recebidos pela HDL₂ torna-se substrato de uma enzima aderida ao endotélio dos vasos hepáticos a lipase hepática (LH) que converte a HDL₂ novamente em HDL₃, que retorna para o ciclo de remoção tecidual do colesterol ou continua a sofrer degradação dos seus constituintes. A LH hidrolisa tanto triglicérides quanto fosfolípidos e é ativada pelo apo E. Uma outra enzima lipolítica é a lipase endotelial, sintetizada pelo endotélio e presente na sua superfície também regula o remodelamento da HDL₂, mas com atividade de hidrólise principal de fosfolípidos ³⁹.

O enriquecimento da HDL com éster de colesterol pode levar a formação de partículas maiores que podem ser captadas pelo fígado. Após este processo, a HDL₂ sofre captação seletiva dos receptores SR-BI, encontrados no fígado e tecidos que produzem hormônios esteróides. A HDL₂ se liga ao receptor com alta afinidade, resultando na transferência seletiva do colesterol éster do núcleo da HDL para compartimentos intracelulares, sem que ocorra a degradação das apolipoproteínas. A HDL é remodelada, originando partículas menores, que iniciam novamente a formação de novas partículas de HDL.

A HDL também pode ser captada e degradada via endocitose. O enriquecimento da HDL com éster de colesterol leva a formação de partículas maiores com alto conteúdo de colesterol e apo E, HDL₁, que podem ser captadas pelo fígado por meio de receptores celulares específicos que reconhecem a apo E, o receptor B/E. Este caminho também retira o colesterol dos tecidos e leva para o fígado, que será reaproveitado⁴¹.

Outro mecanismo indireto é a associação da inflamação com uma HDL não funcionante⁴². A HDL possui funções antioxidante e anti-inflamatória que são propriedades antiaterogênicas, que dependem de proteínas transportadas pela HDL, como a paraoxonase^{43,44}.

Além de suas funções antioxidante e anti-inflamatória, outra parte importante é o transporte reverso de colesterol da periferia para o fígado e o passo inicial para esse transporte reverso é o efluxo de colesterol de macrófagos para a HDL⁴⁵. A capacidade de efluxo de colesterol específico para macrófagos tem sido direta e casualmente ligada a prevenção de aterosclerose em modelos animais. Segundo Mutharasan RK et al (2017)⁴⁶, o efluxo normal de colesterol foi significativamente e positivamente correlacionado com a concentração total da partícula e também ao seu tamanho, onde partículas com tamanhos grande (8.8 – 13 nm) e médio (8.2 – 8.8 nm) apresentaram maior efluxo de colesterol quando comparadas a partículas pequenas (7.3 – 8.2 nm), que apresentaram menor efluxo .

A habilidade da HDL e da apoA-I em estimular o efluxo de colesterol de células espumosas de macrófagos em vasos sanguíneos ateromatosos, é considerada central para seu mecanismo antiaterogênico e representa o primeiro passo em um processo geral de transporte reverso de colesterol⁴⁷. Sendo, portanto, a avaliação do tamanho da HDL de extrema importância.

Diferenças no tamanho de partícula são atribuídas principalmente ao número de moléculas de apolipoproteína sobre a superfície das partículas e as quantidades de ésteres de colesterol no núcleo. Vários métodos, tais como a ultracentrifugação sequencial, precipitação química, cromatografia de imunoafinidade e eletroforese em gel não desnaturante de poliacrilamida de gradiente, têm sido utilizadas para separar subfrações de HDL. A medida do tamanho de partícula da HDL por laser light scattering (LLS) pode ser realizada após a precipitação química de lipoproteínas contendo apoB⁴⁸. Para isso, foi utilizado o método do PEG (Polietilenoglicol), um polímero neutro que reduz a solubilidade da LDL e VLDL⁴⁹. Segundo Lima ES e Maranhão RC (2004)⁴⁸ o uso do PEG proporcionou medidas de diâmetro de HDL por

LLS, que foram mais reprodutíveis e que mais se assemelharam com as obtidas por ultracentrifugação.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação entre periodontite e alterações no perfil lipídico e diâmetro da HDL.

3. Casuística e Métodos

3.1 Casuística

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Santo Amaro. Os participantes foram orientados detalhadamente sobre os objetivos do estudo, assim como todos os procedimentos envolvidos no protocolo de pesquisa. Após todos os esclarecimentos, os pacientes assinaram um termo de consentimento prévio.

Foram selecionados 21 indivíduos de ambos os sexos, com idade acima de 18 anos, destes 21 pacientes, 13 tinham doença periodontal (grupo periodontite), que foram comparados com 8 indivíduos sem doença periodontal (grupo controle). Todos os participantes foram selecionados e convidados a participar do projeto de pesquisa, na Clínica de Odontologia da Universidade Santo Amaro. Os participantes foram pareados por idade, sexo e índice de massa corpórea (IMC). Todos os participantes passaram por avaliação para constatar a presença ou ausência de doença periodontal, que foi realizada por um profissional (cirurgião-dentista) do setor de Periodontia. As amostras de sangue foram colhidas na Clínica de Odontologia da Universidade Santo Amaro. As avaliações laboratoriais de concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicérides, colesterol de HDL e de LDL e diâmetro da HDL foram realizadas no Laboratório de Metabolismo e Lípidos do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Santo Amaro. Os participantes foram orientados detalhadamente sobre os objetivos do estudo, assim como todos os procedimentos envolvidos no protocolo de pesquisa. Após todos os esclarecimentos, os pacientes assinaram um termo de consentimento prévio.

Critérios de exclusão

- Diabetes Mellitus – Critério do Expert Committee Diagnosis of Diabetes Mellitus: glicemia em jejum > 126 mg/dL
- Obesidade, em função do Índice de Massa Corpórea (IMC): Critério recomendado pelo NCEP-ATP-III: IMC > 30 kg/cm²
- Insuficiência renal (concentrações plasmáticas de creatinina, acima dos valores de referência);
- Insuficiência hepática;
- Uso de medicamentos hipolipemiantes;

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliação da doença periodontal

Os pacientes foram submetidos a sondagem com uma sonda periodontal milimetrada, ponta única, PCP15 da marca Hu Friedy. Esta sondagem teve como intuito avaliar a perda das estruturas do periodonto de sustentação.

O exame clínico dirigido à avaliação da perda destes tecidos inclui o registro dos níveis de inserção clínica (NIC), que está no protocolo padrão usado há 45 anos e que ainda permanece em uso até os dias atuais^{50,51}.

Após a avaliação, os pacientes foram separados em grupos, sendo grupo controle e grupo periodontite.

A determinação dos grupos foi com base no resultado da sondagem, sendo, moderada ou severa de acordo com os resultados de perda de inserção serem de 3 a 4mm, ou ≥ 5 mm, respectivamente.

No grupo de periodontite moderada tivemos 3 pacientes e a média de perda de inserção foi de 3,66mm e o desvio padrão foi de 0,5773, já no grupo de periodontite severa tivemos 10 pacientes e perda de inserção foi de 5,9mm e o desvio padrão foi de 0,8756.

Tabela 1 - Dados comparativos entre portadores de periodontite e indivíduos controle.

Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m ²)	Circ. Abdominal (cm)	CT (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	VLDL-c (mg/dL)	TG (mg/dL)	PERIODONTITE
43	103	1,84	30	107	191	58	112	21	104	MODERADA 4MM
58	52	1,5	23	85	226	46	165	24	120	SEVERA 7MM
54	80	1,72	27	98,5	189	31	141	27	134	SEVERA 5MM
55	62,5	1,67	22	88,9	152	36	102	15	73	MODERADA 3MM
56	72	1,53	30,76	101,4	152	56	79	17	86	SEVERA 6MM
64	64	1,62	24	79,5	191	80	87	24	120	SEVERA 6MM
56	65	1,52	28	107	174	43	120	10	51	SEVERA 5MM
64	56	1,4	29	87	157	75	75	7	34	MODERADA 4MM
66	52	1,5	23	86	97	33	38	25	123	SEVERA 7MM
54	80	1,6	23	81	103	57	35	10	50	SEVERA 5MM
42	85	1,68	30	102	111	24	53	35	175	SEVERA 7MM
21	91	1,75	30	94,5	76	25	17	34	169	SEVERA 5MM
38	68	1,7	24	81,5	96	53	25	17	86	SEVERA 7MM
52	70	1,62	27	92	148	47	80	20	102	MÉDIA
13	15	0,12	5	10	47	16	45	9	44	DESVIO
52±13	70±16	1,62±0,12	27±3	92±10	148±47	47±16	80±45	20±9	102±44	
Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (Kg/m ²)	Circ. Abdominal (cm)	CT (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	VLDL-c (mg/dL)	TG (mg/dL)	CONTROLE
47	56,5	1,64	21	71,4	176	64	33	20	76	CONTROLE
36	64	1,5	28	87	151	34	35	22	110	CONTROLE
40	95	1,77	30	96,9	105	31	33	42	206	CONTROLE
36	66	1,6	27	93,6	125	51	51	22	110	CONTROLE
22	65	1,69	23	70,3	233	47	170	15	77	CONTROLE
62	60,2	1,62	31	102	94	26	27	40	200	CONTROLE
56	63,3	1,57	26	91	165	54	87	14	71	CONTROLE
54	60,2	1,6	24	74	166	64	64	9	47	CONTROLE
44	71	1,6	26	86	150	45	78	23	112	MÉDIA
13	14	0,1	4	12	44	19	45	12	60	DESVIO
44±13	71±14	1,6±0,1	26±4	86±12	150±44	49±19	76±46	23±12	112±60	

3.2.2 Determinação das concentrações plasmáticas de lípides e lipoproteínas

As avaliações do perfil lipídico foram realizadas em amostras de sangue colhidas dos participantes, após jejum de 12 horas.

A determinação dos níveis plasmáticos de triglicérides foi realizada através de método enzimático (Merck S.A. Indústrias Químicas - Rio de Janeiro, Brasil). O colesterol total foi determinado por método colorimétrico enzimático (Chod-Pap, Merck S.A. Indústrias Químicas - Rio de Janeiro, Brasil). O colesterol de HDL foi determinado pelo mesmo método utilizado para o colesterol total. O valor do colesterol de LDL foi obtido pela diferença entre o colesterol total e a somatória do colesterol de HDL e colesterol de VLDL. O colesterol de VLDL foi calculado através da divisão dos níveis plasmáticos de triglicérides por 5.

3.2.3 Determinação do diâmetro da HDL

As amostras de sangue foram colhidas dos participantes após 12 horas de jejum, em tubo de tampa roxa contendo anticoagulante EDTA. Os tubos foram centrifugados a 4.000 rpm durante 10 minutos para obtenção do plasma, a centrifuga utilizada foi: Eppendorf, mod 5810 R. Após centrifugação foram retirados 500 µL de plasma e passados para um Eppendorf (microtubo), onde também foram adicionados 500 µL de PEG 8000, substância capaz de separar a HDL das demais através do método de precipitação química das lipoproteínas que contém a apolipoproteína B (VLDL e LDL).

Os tubos Eppendorfs foram colocados em um Vórtex para homogeneização durante 30 segundos e em seguida passados para uma centrífuga de Eppendorf a 5.000 rpm durante 10 minutos. Após centrifugação é possível a visualização de um pellet no fundo do microtubo, onde se encontram as lipoproteínas VLDL e LDL e no sobrenadante a HDL, lipoproteína de interesse. Foram retirados 500 μ L de sobrenadante e passados para uma cubeta de leitura, e em seguida foram adicionados 1.500 μ L de solução salina. Para retirada de impurezas, as amostras foram filtradas utilizando filtro Millex com 0,22 μ m de porosidade. Em seguida a determinação do tamanho da HDL foi realizada por medida de espalhamento de luz através do equipamento Zetasizer Nano Zs, capaz de medir o movimento browniano das partículas e em seguida, através da relação Stokes-Einstein, converter essa medida em tamanho.

3.2.4 Análise Estatística

Para a avaliação da distribuição dos resultados obtidos, foi utilizado o teste de Kolmorov-Smirnov. Para a comparação dos parâmetros estudados entre os grupos, foi realizado o teste t de Student, quando a distribuição das variáveis for gaussiana. Os resultados que não apresentaram distribuição gaussiana foram comparados através do teste Mann-Whitney.

Para a avaliação da correlação entre os parâmetros estudados, foi utilizado o teste de correlação de Pearson, quando a distribuição dos resultados foi gaussiana e o teste de correlação de Spearman, no caso de dados não paramétricos.

4. RESULTADOS

4.1 Características antropométricas e clínicas dos grupos estudados

Entre os grupos estudados houve uma predominância de mulheres, como evidenciado na Tabela 1. A média de idade dos participantes foi de 52 anos para pacientes portadores de periodontite e média de 44 anos para indivíduos controles (Tabela 1). Não houve diferenças significativas entre os parâmetros analisados na Tabela 1, quando comparado o grupo periodontite e grupo controle.

Tabela 2 - Características antropométricas e dados clínicos dos pacientes com periodontite e indivíduos controle.

	Periodontite (n=13)	Controle (n=8)	p
Gênero (H/M)	4/9	2/6	
Idade (anos)	52±13	44±13	0,1913
IMC (kg/m²)	27±3	26±4	0,9001
Circunferência Abdominal (cm)	92±10	86±12	0,2014

Dados expressos pela média ± desvio padrão. IMC: Índice de massa corpórea.

4.2 Concentrações plasmáticas de lípidos e lipoproteínas

Após a realização dos ensaios enzimáticos colorimétricos, conforme metodologia descrita em métodos, os indivíduos que apresentaram doença periodontal (grupo periodontite) foram comparados com indivíduos saudáveis (grupo controle). Como observado na Tabela 2, não houve diferenças significativas entre as concentrações plasmáticas de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triglicérides entre os grupos.

Tabela 3 - Determinação do perfil lipídico de indivíduos portadores de periodontite e indivíduos controle.

	Periodontite (n=13)	Controle (n=8)	p
Colesterol total (mg/dL)	148±47	150±44	0,941
HDL-c (mg/dL)	47±18	49±19	0,865
LDL-c (mg/dL)	80±45	78±46	0,906
VLDL-c (mg/dL)	20±9	23±12	0,583
Triglicérides (mg/dL)	102±4	115±59	0,564

Dados expressos pela média ± desvio padrão. HDL-c: colesterol de HDL; LDL-c: colesterol de LDL; VLDL-c: colesterol de VLDL.

4.3 Diâmetro de HDL

O diâmetro de HDL foi medido neste estudo, uma vez que apresenta relação com a qualidade das funções da lipoproteína. Como mostrado na Tabela 3, não houve diferença significativa no tamanho da lipoproteína quando comparados os grupos periodontite e controle.

Tabela 4 - Determinação do diâmetro da HDL em portadores de periodontite e indivíduos controle.

	Periodontite (n=13)	Controle (n=8)	p
Diâmetro (nm)	9,275±0,31	9,181±0,34	0,527
PDI	0,208±0,01	0,209±0,02	0,900

Dados expressos pela média ± desvio padrão. PDI: Polydispersity Index.

5. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a relação entre periodontite, perfil lipídico e diâmetro de HDL. Alterações nas concentrações plasmáticas de lípidos e lipoproteínas são relacionadas com aumento de risco cardiovascular, porém, neste estudo os pacientes portadores de periodontite não apresentaram diferenças significativas nas concentrações de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triglicérides quando comparados aos indivíduos controles, embora o grupo controle tenha apresentado maiores níveis de triglicérides quando comparados ao grupo periodontite. Os nossos resultados são diferentes dos obtidos em estudos passados, como no trabalho feito por Nepomuceno et al (2017)⁵², que demonstrou que a presença de periodontite está significativamente associada com a redução da HDL e elevação nas concentrações de LDL-c e triglicérides.

Ainda existem conflitos de resultados na literatura quando se compara o perfil lipídico com a presença de periodontite. No estudo realizado por Losche et al (2000)⁷, que avaliou 39 pacientes com periodontite e 40 controles, os pacientes portadores da doença apresentaram maiores níveis de LDL-c e triglicérides quando comparados aos indivíduos controles, porém, os níveis de HDL-c não apresentaram alterações significativas entre os dois grupos. Ainda no trabalho realizado por Machado et al (2005)⁵³, não tiveram alterações significativas entre os níveis plasmáticos de lípidos entre os grupos periodontite e controle. A divergência entre os resultados encontrados na literatura pode ser devido a diversos fatores como a média de idade dos participantes das pesquisas, uma vez que a periodontite acomete principalmente adultos acima dos 40 anos de idade, a quantidade de participantes e também devido a gravidade da doença periodontal que foi considerada para cada estudo. Este presente estudo incluiu participantes jovens, acima de 18 anos de idade, tanto para o grupo com periodontite quanto o grupo controle, enquanto no trabalho realizado por Losche W et al (2000)⁷, foram utilizados participantes portadores de doença periodontal entre a faixa etária de 50 a 60 anos e indivíduos controles com faixa etária entre os 40 anos de idade. Quanto a severidade da doença, nosso estudo incluiu portadores de doença periodontal considerada grave, porém, este grau de severidade pode ter apresentado diferença na classificação entre os diferentes estudos.

Outro parâmetro analisado no presente estudo foi o diâmetro de HDL por *laser light scattering* (LLS), após a precipitação química das lipoproteínas contendo apoB.

A heterogeneidade no tamanho da partícula está relacionada a quantidade de Apos em sua superfície, bem como ao seu conteúdo lipídico inicial^{48,54}. O seu tamanho está relacionado com a qualidade de suas funções, como mostrado por Mutharasan RK et al (2017)⁴⁶, onde seus resultados mostraram que partículas de HDL com tamanhos maiores apresentam capacidade de efluxo de colesterol normalizado em comparação a partículas que apresentaram tamanhos menores , entre 7.3 a 8.3 nm. Portanto, partículas de HDL maiores podem ser consideradas mais antiaterogênicas que aquelas que apresentam menor tamanho.

Este estudo foi o primeiro a tentar associar alterações no diâmetro da HDL em pacientes portadores de doença periodontal. Os resultados obtidos para o diâmetro não apresentaram diferenças significativas entre o grupo periodontite quando comparado ao grupo controle.

Nosso trabalho não obteve diferenças significativas entre os parâmetros analisados e mostrou-se diferente de outros trabalhos na literatura. Consideramos que, a diferença de resultados obtidos entre os estudos, foi em relação a idade e porque os outros estudos não avaliaram o diâmetro da HDL. Para futuros estudos, seria interessante, maior número de participantes para confirmar os resultados obtidos.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, pacientes com periodontite não apresentaram alterações no perfil lipídico e no diâmetro da HDL.

7. REFERÊNCIAS

1. DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *BMJ* [Internet]. 1993;306(6879):688–91. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1677081&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
2. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*. 1996;67(10 Suppl):1123–37.
3. Dietrich T. NIH Public Access. *Health Policy (New York)*. 2008;117(13):1668–74.
4. Cutler CW, Shinedling EA, Nunn M, Jotwani R, Kim BO, Nares S, et al. Association between periodontitis and hyperlipidemia: cause or effect? *J Periodontol* [Internet]. 1999;70(12):1429–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10632517>.
5. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA*. 1998;279(18):1477–82.
6. Doxey DL, Nares S, Park B, Trieu C, Cutler CW, Iacopino AM. Diabetes-induced impairment of macrophage cytokine release in a rat model: Potential role of serum lipids. *Life Sci*. 1998;63(13):1127–36.
7. Losche W, Karapetow F, Pohl A, Pohl C, Kocher T. Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2000;27(8):537–41.
8. Moeintaghavi A, Haerian-Ardakani A, Talebi-Ardakani M, Tabatabale I. Hyperlipidemia in patients with periodontitis. *J Contemp Dent Pract*. 2005;6(3):78–85.
9. Sandi RM, Pol KG, Basavaraj P, Khuller N, Singh S. Association of Serum Cholesterol, Triglyceride, High and Low Density Lipoprotein (HDL and LDL) Levels in Chronic Periodontitis Subjects with Risk for Cardiovascular Disease (CVD): A Cross Sectional Study. *J Clin Diagn Res* [Internet]. 2014;8(1):214–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3939555&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

10. Kimak A, Strycharz-Dudziak M, Bachanek T, Kimak E. Lipids and lipoproteins and inflammatory markers in patients with chronic apical periodontitis. *Lipids Heal Dis* [Internet]. 2015;14(1):162. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26666260>.
11. Goteiner D, Craig RG, Ashmen R, Janal MN, Eskin B, Lehrman N. Endotoxin Levels Are Associated With High-Density Lipoprotein, Triglycerides, and Troponin in Patients With Acute Coronary Syndrome and Angina: Possible Contributions From Periodontal Sources. *J Periodontol* [Internet]. 2008;79(12):2331–9. Available from: <http://www.joponline.org/doi/10.1902/jop.2008.080068>.
12. Leite ACE, Carneiro VM DA, Guimarães MDCM. Effects of periodontal therapy on C-reactive protein and HDL in serum of subjects with periodontitis. *Rev Bras Cir Cardiovasc* [Internet]. 2014;29(1):69–77. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1678-9741.20140013>.
13. Doxey DL, Cutler CW, Iacopino AM. Diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin 1-beta in a rat model. *J Periodontol* [Internet]. 1998;69(2):113–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9526909.
14. Feingold KR, Staprans I, Memon R a, Moser a H, Shigenaga JK, Doerrler W, et al. Endotoxin rapidly induces changes in lipid metabolism that produce hypertriglyceridemia: low doses stimulate hepatic triglyceride production while high doses inhibit clearance. *J Lipid Res* [Internet]. 1992;33:1765–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1479286>.
15. Shaw PX, Goodyear CS, Chang M-K, Witztum JL, Silverman GJ. The Autoreactivity of Anti-Phosphorylcholine Antibodies for Atherosclerosis-Associated Neo-Antigens and Apoptotic Cells. *J Immunol* [Internet]. 2003;170(12):6151–7. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.170.12.6151>.
16. Chapple ILC, Brock GR, Milward MR, Ling N, Matthews JB. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: Cause or effect? *J Clin Periodontol*. 2007;34(2):103–10.
17. Matthews JB, Wright HJ, Roberts A, Cooper PR, Chapple ILC. Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis. *Clin Exp*

- Immunol. 2007;147(2):255–64.
18. D’Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res* [Internet]. 2010;89(11):1241–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20739696>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3318025>.
 19. Bretz WA, Weyant RJ, Corby PM, Ren D, Weissfeld L, Kritchevsky SB, et al. Systemic inflammatory markers, periodontal diseases, and periodontal infections in an elderly population. *J Am Geriatr Soc*. 2005;53(9):1532–7.
 20. Gomes-Filho IS, Freitas Coelho JM, da Cruz SS, Passos JS, Teixeira de Freitas CO, Aragão Farias NS, et al. Chronic periodontitis and C-reactive protein levels. *J Periodontol* [Internet]. 2011;82(7):969–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21189085>.
 21. Durrington P. Dyslipidaemia. *Lancet* [Internet]. 2003;362(9385):717–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12957096>.
 22. LaRosa JC. Understanding risk in hypercholesterolemia. *Clin Cardiol*. 2003;26(1 Suppl 1):I3-6.
 23. Brown MS, Goldstein JL. M58 A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232(4746):34–47.
 24. Stamler JS, Vaughan DE, Rudd MA, Mudge GH, Kirshenbaum J, Young P, et al. Frequency of Hypercholesterolemia. 62:1268–72.
 25. Griffin B a. Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. *Proc Nutr Soc*. 1999;58(July 1998):163–9.
 26. Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res*. 1994;31:131-43.
 27. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol*. 2002;90(10):L40–8.
 28. Tabet F, Rye K-A. High-density lipoproteins, inflammation and oxidative stress. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116(2):87–98.
 29. Alvarez C, Ramos A. Lipids, lipoproteins, and apoproteins in serum during infection. *Clin Chem*. 1986;32(1):142–5.
 30. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Thomson MJ, Karagounis LA, et al. Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms

- of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27(7):1555–61.
31. Asztalos BF, Schaefer EJ. High-density lipoprotein subpopulations in pathologic conditions. *Am J Cardiol*. 2003;91(7 SUPPL. 1).
 32. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R, Shepherd J, Ballantyne C, et al. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis*. 2003;168(2):195–211.
 33. Asztalos BF, Tani M, Schaefer EJ. Metabolic and functional relevance of HDL subspecies. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2011;22(3):176–85. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00041433-201106000-00006>.
 34. Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, Nichols A V. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta*. 1981;665:408–19.
 35. Atmeh RF, Abd Elrazeq IO. Small high density lipoprotein subclasses: some of their physico-chemical properties and stability in solution. *Acta Biochim Pol* [Internet]. 2005;52(2):515–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15933758>.
 36. Oram JF. ABCA1 as a new therapeutic target for treating cardiovascular disease. *Drug News Perspect*. 2002;15(1):24.
 37. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res*. 2005;96(12):1221–32.
 38. Ji ZS, Dichek HL, Miranda RD, Mahley RW. Heparan sulfate proteoglycans participate in hepatic lipase and apolipoprotein E mediated binding and uptake of plasma lipoproteins, including high density lipoproteins. *J Biol Chem*. 1997;272(50):31285–92.
 39. von Eckardstein A, Fischer F, Schulte H, Tataru MC, Köhler E, Assmann G. Association of serum apolipoprotein A-I (but not high-density lipoprotein cholesterol) with healed myocardial infarction in men independent of serum insulin and C-peptide. *Am J Cardiol*. 2001;88(7):723–6.
 40. Eisenberg S, Gavish D, Oschry Y, Fainaru M, Deckelbaum RJ. Abnormalities in very low, low, and high density lipoproteins in hypertriglyceridemia. Reversal toward normal with bezafibrate treatment. *J Clin Invest*. 1984;74(2):470–82.
 41. Pilon A, Briand O, Lestavel S, Copin C, Majd Z, Fruchart JC, et al. Apolipoprotein AII enrichment of HDL enhances their affinity for class B type I scavenger

- receptor but inhibits specific cholesteryl ester uptake. *Arter Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2000;20(4):1074–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10764676>.
42. Fisher EA, Feig JE, Hewing B, Hazen SL, Smith JD. High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(12):2813–20.
 43. JW H. The protein cargo of HDL: implications for vascular wall biology and therapeutics. *J Clin Lipidol*. 2010;4:371–5.
 44. Davidson WS, Silva RA, Chantepie S, Lagor WR, Chapman MJ KA. Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function. *Arter Thromb Vasc Biol*. 2009;29:870–6.
 45. Rader DJ, Alexander ET, Weibel GL, Billheimer J, Rothblat GH. The role of reverse cholesterol transport in animals and humans and relationship to atherosclerosis. *J Lipid Res* [Internet]. 2009;50(Supplement):S189–94. Available from: <http://www.jlr.org/lookup/doi/10.1194/jlr.R800088-JLR200>.
 46. Mutharasan RK, Thaxton CS, Berry J, Daviglius ML, Yuan C, Sun J, Ayers C, Lloyd-Jones D WJ. HDL Efflux Capacity, HDL Particle Size and High-Risk Carotid Atherosclerosis in a Cohort of Asymptomatic Older Adults: The Chigado Healthy Aging Study. *J Lipid Res*. 2017;58(3):600–6.
 47. Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, Pagler T, Wang N. HDL, ABC Transporters, and Cholesterol Efflux: Implications for the Treatment of Atherosclerosis. *Cell Metab*. 2008;7(5):365–75.
 48. Lima ES MR. Rapid, Simple Laser-Light-Scattering Method for HDL Particle Sizing in Whole Plasma. *Clin Chem*. 2004;50(6):1086–8.
 49. Davidson WS, Heink A, Sexmith H, Melchior JT, Gordon SM, Kuklennyk Z, et al. The effects of apolipoprotein B depletion on HDL subspecies composition and function. *J Lipid Res* [Internet]. 2016;57(4):674–86. Available from: <http://www.jlr.org/lookup/doi/10.1194/jlr.M066613>.
 50. Burt B. Position paper - Epidemiology of periodontal diseases. *J Periodontol* [Internet]. 2005;76(8):1406–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16945041>.
 51. Lopes FF, Loureiro FHF, Pereira A de FV, Pereira AL do A, Alves CMC. Associação entre osteoporose e doença periodontal em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Ginecol e Obs*. 2008;30(9):379–83.

52. Nepomuceno R, Pigossi SC, Finoti LS, Orrico SRP, Cirelli JA, Barros SP, et al. Serum lipid levels in patients with periodontal disease. A meta-analysis and meta-regression. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2017;0–2. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jcpe.12792><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28782128>.
53. Cristina A, Machado P, Fernando L, Nascimento C. Relation between chronic periodontal disease and plasmatic levels of triglycerides , total cholesterol and fractions Relação entre doença periodontal crônica e os níveis plasmáticos de triglicérides , colesterol total e frações. *Braz Oral Res*. 2005;19(4):284–9.
54. Lyssenko NN, Nickel M, Tang C, Phillips MC. Factors controlling nascent high-density lipoprotein particle heterogeneity: ATP-binding cassette transporter A1 activity and cell lipid and apolipoprotein AI availability. *FASEB J*. 2013;27(7):2880–92.

8. ANEXOS

Anexo A:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Protocolo: Associação entre periodontite e aspectos qualitativos da lipoproteína de alta densidade (HDL).

Você está sendo convidado (a) a participar de um projeto de pesquisa “Associação entre periodontite e alterações no perfil lipídico e diâmetro da lipoproteína de alta densidade (HDL)” da Universidade de Santo Amaro, UNISA, que será realizado pelas pesquisadoras Bruna Lopes Salomão e Roberta Vanalli Baroni como trabalho de Conclusão de Curso sob orientação da Profa. Dra. Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre e do Prof. Dr. Ricardo Schmitutz Jahn.

Pessoas que tem periodontite, inflamação e infecção dos ligamentos e ossos que sustentam os dentes, possuem um risco maior de doenças do coração. Esse projeto vai avaliar, nos participantes do estudo, a HDL partícula que está no sangue, conhecida como “colesterol bom”. A HDL protege contra as doenças do coração porque retira o colesterol que a LDL, conhecida como “colesterol ruim” deixou acumulada na parede dos vasos. Além disso, a HDL age na LDL para que ela não tenha a capacidade de juntar colesterol na parede dos vasos. O objetivo da pesquisa é saber se a HDL de portadores de periodontite tem suas funções protetoras diminuídas e, dessa maneira, estaria contribuindo para a maior chance de doenças do coração. Para o estudo, será colhida uma amostra de sangue, por meio de uma picada com agulha, em uma veia de seu braço. Você terá o desconforto da dor da picada e o risco de seu braço ficar roxo no local da picada.

Os benefícios da pesquisa para você e para as demais pacientes com periodontite estão relacionados ao melhor conhecimento da HDL, o que pode ser importante para prevenir as doenças do coração.

Você terá acesso aos resultados e poderá se retirar da pesquisa a qualquer momento se for de sua vontade.

Você não terá despesas pessoais com os exames, assim como não receberá nenhum pagamento pela sua participação. Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos da pesquisa, fica assegurado o respeito aos seus direitos legais e indenização por danos eventuais.

São Paulo, ____/____/____

Bruna Lopes Salomão

Roberta Vanalli Baroni

Se você concordar em participar dessa pesquisa, assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o número de seu documento de identificação.

Nome: _____
Doc. de Identificação: _____

Declaramos que obtivemos de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido desse participante, para participação nesse estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

Profa. Dra. Carmen G. C. de Matos Vinagre
Pesquisadora responsável

Data: ____/____/____

Prof. Dr. Ricardo Schmitutz Jahn
Pesquisador responsável

Data: ____/____/____

Anexo B:

UNIVERSIDADE SANTO AMARO
FICHA DE ANAMNESE CLÍNICA



**ASSOCIAÇÃO ENTRE PERIODONTITE E ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E
DIÂMETRO DA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE (HDL)**

1. Identificação

Nome: _____ Nasc. ____/____/____
 Profissão: _____ Tel. Residencial _____
 Endereço: _____ Tel. Com: _____
 E-mail: _____ Tel. Celular: _____
 R.G: _____ CPF: _____

2. Anamnese Média (responda apenas em casos afirmativos)

2.1 Está fazendo uso de algum medicamento ? ()

Qual deles e por que razão?

Antibióticos

Analgésicos

Anti-inflamatórios

Cortisona

Anticoagulantes

Hormônios (contraceptivos)

Antidepressivos

Anti-hipertensivos

Hipolipemiantes

Outros (fórmulas)

3. Tem ou teve?

Diabetes ()	AIDS ou HIV+ ()	Distúrbios circulatórios ()
Hepatite ()	Herpes ()	Distúrbios cardíacos ()
Hanseníase ()	Tuberculose ()	Distúrbios renais ()
Está grávida? ()	Há quanto tempo ? _____	
Você fuma? ()	Quantos cigarros por dia ? _____	
Você bebe? ()	Com que frequência ? _____	
Usa algum tipo de droga ?()	Qual ? _____	

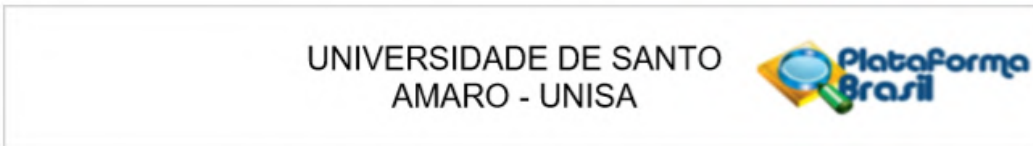
4. IMC (Índice de Massa Corporal)

Peso (Kg) _____
 Altura (m) _____
 Circunferência abdominal _____

Reconheço as afirmações acima como verdadeiras.

São Paulo, _____ de _____ de 20_____

ASSINATURA

Anexo C:**APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Associação entre periodontite e aspectos qualitativos da lipoproteína de alta densidade (HDL)

Pesquisador: Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 59011116.9.0000.0081

Instituição Proponente: Universidade de Santo Amaro - UNISA

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.717.809

Apresentação do Projeto:

O propósito deste projeto é avaliar a associação entre periodontite e alterações qualitativas da HDL. A doença periodontal crônica, bastante prevalente na população adulta, tem sido relacionada com diversas alterações sistêmicas, entre elas as dislipidemias, que são fatores de risco conhecidos para a aterosclerose. A presença de periodontite está relacionada à diminuição da HDL, que possui um importante papel antiaterogênico. É de extrema importância não somente a avaliação dos níveis plasmáticos de HDL, como também de sua capacidade anti-oxidante e anti-inflamatória em indivíduos com periodontite.

As hipóteses do estudo são: a HDL apresenta importante função antiinflamatória que está relacionada à proteção contra doenças cardiovasculares. Pacientes com doença periodontal, doença inflamatória crônica, apresentam maior risco de doenças cardiovasculares e, provavelmente, alterações em aspectos qualitativos

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 1.717.809

da HDL, relacionados à sua função antiinflamatória, como a função antioxidante e diâmetro.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

-O objetivo geral desse estudo é avaliar a associação entre periodontite e alterações qualitativas da HDL.

Objetivo Secundário:

- Avaliar a associação entre periodontite e função antioxidante da HDL, diâmetro da HDL , concentração das subfrações HDL2 e HDL3 na HDL total.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Risco mínimo relacionado à coleta de amostras de sangue dos pacientes, onde estes podem sentir o desconforto da picada e após o procedimento o local da coleta poderá ficar roxo.

Benefícios:

Não apresenta benefícios diretos aos sujeitos de pesquisa. Os benefícios estão relacionados com o conhecimento das alterações em aspectos qualitativos da HDL em pacientes com doença periodontal.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão avaliados 30 indivíduos portadores de doença periodontal, que serão comparados com 30 indivíduos sem doença periodontal com mais de 18 anos. Serão selecionados e convidados a participar do projeto de pesquisa, na Clínica de Odontologia da Universidade de Santo Amaro. Serão pareados por idade, sexo e índice de massa corpórea e passarão por avaliação por um profissional dentista. As amostras de sangue serão colhidas no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Santo Amaro, onde serão realizadas as seguintes avaliações laboratoriais: concentrações de colesterol, triglicérides, colesterol de HDL e de LDL,

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 1.717.809

de creatinina e glicemia e atividade da aspartato transaminase, alanina transaminase e gamaglutamil transferase. Os testes diâmetro da HDL, função antioxidante da HDL e concentrações das subfrações HDL2 e HDL3 na HDL total serão realizados no Laboratório de Metabolismo e Lípidos do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os participantes serão orientados detalhadamente sobre os objetivos e os procedimentos envolvidos no protocolo de pesquisa e assinarão um termo de consentimento prévio. Avaliação da doença periodontal: O exame clínico inclui o registro dos níveis de inserção clínica (NIC) (BURT, 2005; LOPES et al, 2008), separação da LDL, função antioxidante da HDL, suscetibilidade da LDL à oxidação, essa lipoproteína será isolada do plasma de voluntários sadios, por ultracentrifugação em gradiente de densidade e dialisada em solução fisiológica. Será realizada a determinação de proteínas pelo método de Lowry. À amostra será adicionado sulfato de cobre (CuSO₄) 50mM, como sistema oxidante. A mistura será colocada em espectrofotômetro a 37 °C por 2 horas, 234 nm. A formação de dienos conjugados será determinada pela variação de absorbância. Será calculado o tempo, em minutos, de resistência da LDL à oxidação (lag time). O lag time de oxidação das LDL representa o tempo que estas lipoproteínas resistem à oxidação. A HDL dos participantes será separada do plasma através de precipitação química das lipoproteínas que contém apo B, LDL e VLDL, utilizando-se reagente precipitante constituído por cloreto de magnésio e ácido fosfotúngstico. Uma vez separada a HDL dos participantes, o experimento de suscetibilidade da LDL à incubação será repetido, agora com a presença da HDL no sistema. Determinação das concentrações

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

Continuação do Parecer: 1.717.809

plasmáticas dos lipídes, lipoproteínas: As avaliações do perfil lipídico serão realizadas após jejum de 12 horas por método enzimático colorimétrico. Determinação do diâmetro da HDL: Serão colhidas amostras de sangue (2,0 mL) dos participantes, em jejum de 12 horas, em tubos contendo 0,15% de Na₂ EDTA. Após centrifugação a 2500 rpm, será obtida alíquota de plasma. A HDL será separada das outras lipoproteínas plasmáticas através de método de precipitação química das lipoproteínas que contem apolipoproteína B (VLDL e LDL). A determinação do tamanho da HDL será realizada por medida de espalhamento de luz através do equipamento Zeta Potential Analyser. Determinações das Subfrações HDL2 e HDL3 na HDL Total. A determinação da HDL3 é feita através da adição de um precipitante, o dextran a 2% mais MgCl₂ ao sobrenadante da HDL total. Já a HDL2 é adicionada o Reativo 1 do Colesterol Total (Chod-Pap, Merck S.A. Indústrias Químicas - Rio de Janeiro, Brasil), a leitura de ambas em 500 nm.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Pendências atendidas:

- No TCLE foram adicionados e especificados os riscos da pesquisa.
- Os riscos também foram especificados na plataforma brasil.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado. Pendências atendidas:

- No TCLE foram adicionados e especificados os riscos da pesquisa.
- Os riscos também foram especificados na plataforma brasil.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_682135.pdf	31/08/2016 13:37:24		Aceito

Endereço: Rua Prof^o Enéas de Siqueira Neto, 340
 Bairro: Jardim das Imbuías CEP: 02.450-000
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2141-8687 E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 1.717.809

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Roberta.doc	31/08/2016 13:37:09	Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	22/08/2016 12:57:32	Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_PERIODONTITE.docx	21/08/2016 16:46:37	Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	CARTA_AUTORIZACAO.pdf	21/08/2016 16:18:28	Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	21/08/2016 16:15:56	Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CO_PARTICIPANTE.pdf	17/08/2016 15:06:26	Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 08 de Setembro de 2016

Assinado por:
José Antonio Silveira Neves
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof Enéas de Siqueira Neto, 340
Bairro: Jardim das Imbuías **CEP:** 02.450-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2141-8687 **E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br