EGAS MONIZ SCHOOL of HEALTH & SCIENCE | INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ÍNDICES DE IMUNO-INFLAMAÇÃO SISTÉMICA PARA PREVER O ESTADIO E GRAU DA PERIODONTITE ATRAVÉS DE MARCADORES CIRCULATÓRIOS

Trabalho submetido por
Ana Catarina de Azevedo Gomes
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

junho de 2023

EGAS MONIZ SCHOOL of HEALTH & SCIENCE | INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ÍNDICES DE IMUNO-INFLAMAÇÃO SISTÉMICA PARA PREVER O ESTADIO E GRAU DA PERIODONTITE ATRAVÉS DE MARCADORES CIRCULATÓRIOS

Trabalho submetido por
Ana Catarina de Azevedo Gomes
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor João Botelho

e coorientado por
Prof.ª Doutora Vanessa Machado e Prof. Doutor Yago Leira Feijoó

junho de 2023

Se fizeres o que pensas
Se pensares o que fazes
Se fizeres o que sabes
Se souberes o que fazer
Então,
Olha p'ro alto agora
Agradece e sorri
Terás o mundo para ti

Avô Zeca

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor João Botelho, agradeço do fundo do coração o apoio incondicional, as palavras sábias que me acalmaram nos momentos mais exigentes, a paciência e a confiança que sempre teve em mim, desde o primeiro dia, para o desenvolvimento deste projeto. Mais que um orientador, foi um amigo, e vou preservar para sempre os valores que me transmitiu, o perfecionismo, rigor, profissionalismo e empenho. Sem cada palavra, conselho e apoio não teria chegado a um final tão bonito!

À minha coorientadora, Prof.ª Doutora Vanessa Machado, agradeço cada momento de incentivo, cada palavra amiga, cada sorriso que me fez dar nos momentos de mais inquietação, pela experiência e sabedoria que me transmitiu.

Ao meu coorientador, Prof. Doutor Yago Feijoó, agradeço todo o seu apoio e confiança para a elaboração deste projeto.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, por me tornar na pessoa que sou hoje e por me ter transmitido toda a sabedoria necessária para o meu futuro profissional.

Aos meus pais, Cristina e Miguel, por desde o primeiro dia terem sido o meu porto seguro, pelo apoio em cada decisão e por celebrarem sempre as minhas conquistas como mais ninguém. Obrigada por me terem transmitido o melhor de cada um de vocês e me terem feito ser quem sou hoje! Sem vocês nada seria possível, para sempre os meus maiores exemplos!

À minha avó Lurdes, por tudo o que foste, és e serás sempre para mim! Obrigada por me ouvires nos momentos de desespero, pelas velinhas, por subires montanhas por mim e seres um dos maiores pilares da minha vida!

Ao meu amor, Carlos, que me apoia em cada momento, celebra comigo, me faz querer ser melhor e torna os dias maus em apenas dias menos bons. Obrigada por me fazeres feliz e que agora seja o ponto de partida para o resto da nossa vida!

À Prof.ª Doutora Joana Costa, obrigada pelas quintas-feiras, pelos projetos juntas, pela confiança, gargalhadas e palavras de apoio sempre presentes em cada momento de dúvida!

À minha melhor amiga, Inês, sem ti nada disto seria possível. És quem fez este percurso ser mais bonito e me ajudou a chegar aqui. Não existem palavras suficientes para descrever o que construímos! Agora é para sempre!

Por fim, aos amigos que são para a vida, a Nó, o Rui, a Cata e a Cate. Obrigada por terem atravessado a minha vida, pelos momentos e por tudo o que vivemos durante este percurso! Não teria sido tão fantástico sem vocês! Que tenha sido apenas o início de uma vida a celebrarmos juntos!

Resumo

Introdução: Entre 2011 e 2020 estimou-se que cerca de 62% dos adultos dentados apresentaram periodontite, sendo a forma mais severa responsável por 23,6%. A periodontite caracteriza-se por um infiltrado celular inflamatório local e uma multiplicidade pró-inflamatória que se traduz sistemicamente através da corrente sanguínea. Um novo índice de imuno-inflamação sistémica (SII) tem sido proposto para prever o prognóstico de várias doenças. O objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar um índice de imuno-inflamação baseado em marcadores circulatórios sanguíneos para prever a periodontite.

Materiais e Métodos: Foram incluídos participantes com análise periodontal completa do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2009-2010, 2011-2012 e 2013-2014. Os dados periodontais foram obtidos através de um processo calibrado para recessão gengival e profundidade de bolsa periodontal (PPD). De acordo com o protocolo do ciclo NHANES 2011-2014, o método *Beckman Coulter*, em combinação com um dispositivo de diluição e mistura para processamento de amostras, e um fotómetro para hemoglobinometria, foi utilizado para a contagem de células sanguíneas a partir da amostra de sangue periférico obtida.

Resultados: Num total de 9.709 participantes elegíveis, o SII foi aplicado à amostra, verificando-se que os pacientes com e sem periodontite apresentaram valores pouco diferentes (518.69 vs. 519.86, $p \leq 0.912$). Analisando a distribuição das variáveis PCA, foram encontrados *clusters* entre as variáveis. Na análise multivariada, 6 variáveis apresentaram valor preditivo significativo para a presença de periodontite ($p<0.001$): basófilos, eritrócitos, hemoglobina, volume corpuscular médio, volume plaquetário médio e largura da distribuição dos eritrócitos.

Discussão e Conclusões: Foi possível propor um novo índice de imuno-inflamação para a periodontite que, quando comparado com o SII original, apresentou uma elevada significância. A proposta deste índice foi concebida de modo a reconhecer a importância dos fatores e indicadores de risco e comorbilidades associados à doença periodontal, bem como a importância do diagnóstico precoce e tratamento personalizado.

Palavras-chave: índice de imuno-inflamação sistémica; periodontite; previsão; marcadores circulatórios.

Abstract

Introduction: It is estimated that between 2011 and 2020, approximately 62% of dentate adults were affected by periodontitis, with severe periodontitis accounting for 23.6% of cases. Periodontitis is characterized by a local inflammatory cellular infiltrate and a pro-inflammatory multiplicity that translates systemically through the bloodstream. A new index of systemic immune-inflammation (SII) has been proposed to predict the prognosis of various diseases. The objective of this study was to develop and evaluate an immune-inflammation index based on blood circulating markers for the prediction of periodontitis.

Materials and Methods: Participants with complete periodontal analysis from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2009-2010, 2011-2012, and 2013-2014 were included. Periodontal data were obtained using a calibrated procedure for gingival recession and periodontal pocket depth (PPD). According to the protocol of the NHANES 2011-2014 cycle, the Beckman Coulter method was used in combination with a dilution and mixing device for sample processing and a photometer for hemoglobinometry for blood cell counts from the obtained peripheral blood sample.

Results: In a total of 9.709 eligible participants, the SII was applied to the sample and little difference was found between patients with and without periodontitis (518.69 vs. 519.86, $p<=0.912$). When the distribution of the PCA variables was analyzed, clusters of variables were found. In multivariate analysis, 6 variables showed significant predictive value for the presence of periodontitis ($p<0.001$): basophils, erythrocytes, hemoglobin, mean corpuscular volume, mean platelet volume and width of erythrocyte distribution.

Discussion and conclusions: It was possible to propose a new index of immuno-inflammation for periodontitis, which showed high significance when compared with the original SII. The proposal of this index was designed to recognize the importance of risk factors and indicators and co-morbidities associated with periodontal disease, as well as the importance of early diagnosis and personalized treatment.

Keywords: systemic immune-inflammation index; periodontitis; prediction; circulatory markers.

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO 13

1. PERIODONTITE 13

1.1. Manifestações Clínicas 15

1.2. Fatores e Indicadores de Risco 17

2. IMUNO-INFLAMAÇÃO E MARCADORES CIRCULATÓRIOS 19

3. SAÚDE PERIODONTAL E DISTÚRBIOS SANGUÍNEOS 20

3.1. Bacteriemia associada à periodontite e consequente inflamação sistémica 21

3.2. Imunomodelação das HSCs na inflamação periodontal 21

3.3. O efeito hematogénico do tratamento periodontal 23

3.4. Manifestações periodontais de doenças do sangue 24

3.5. Distúrbios de Glóbulos Brancos 25

3.6. Doenças dos Glóbulos Vermelhos 26

3.7. Plaquetas e Distúrbios da Homeostasia 26

4. ÍNDICE DE IMUNO-INFLAMAÇÃO SISTÉMICA (SII) 27

5. OBJETIVO 27

II. MATERIAIS E MÉTODOS 29

1. CONCEPÇÃO DO ESTUDO, LOCAL E PARTICIPANTES 29

2. AVALIAÇÃO PERIODONTAL E ESTADIAMENTO 29

3. MARCADORES CIRCULATÓRIOS DO SANGUE 30

4. DESEMPENHO E ESTATÍSTICA DOS ÍNDICES DE IMUNO-INFLAMAÇÃO SISTÉMICA 30

III. RESULTADOS 33

1. PARTICIPANTES 33

2. CARACTERÍSITICAS DO ESTUDO 34

IV. DISCUSSÃO 39

1. OBJETIVOS, RESULTADOS E IMPACTOS 39

2. IMPORTÂNCIA DOS RESULTADOS NO CONTEXTO CLÍNICO E DE SAÚDE PÚBLICA 39

3. MARCADORES CIRCULATÓRIOS 41

4. FORÇAS E LIMITAÇÕES 42

V. CONCLUSÕES 45

VI. PERSPETIVAS FUTURAS 47

VII. BIBLIOGRAFIA 49

Índice de Figuras

Figura 1 | **Efeito do biofilme disbiótico no periodonto.** 13
Figura 2 | **Tecidos compreendidos pelo periodonto.** 14
Figura 3 | **Diferenças entre dente saudável e dente com doença periodontal, incluindo as características primárias da doença periodontal.** 16
Figura 4 | **Evolução de um dente saudável para um dente com periodontite (original).** 17
Figura 5 | **Fluxograma dos participantes** 33

Índice de Tabelas

Tabela 1 | **Níveis de marcadores circulatórios do sangue dos participantes, distribuídos por estado periodontal (N=9.709). Valores apresentados como média (desvio padrão).** 34

Tabela 2 | **Aplicação do SII à amostra de estudo (N=9.709).** 35

Tabela 3 | **Distribuição geral dos marcadores circulatórios entre os componentes, após análise de componentes principais (PCA) (*) (N=9.709).** 36

Tabela 4 | **Análise de regressão logística multivariada (modelo final reduzido) (*) para a variável de resultado Periodontite (Sim) (N=9.709).** 37

Tabela 5 | **Comparação do desempenho entre o SII e o índice proposto (pSII) através da análise ROC (N=9.709).** 37

Tabela 6 | **Desempenho do pSII para grupos específicos utilizando a análise ROC.** 38

Lista de Abreviaturas

ABP - Osso Alveolar Propriamente Dito

AF – Anemia Falciforme

AI – Anemia de Inflamação

AP - Osso Alveolar

AUC - *Area Under the Curve*

CAL - Perda de Inserção Clínica

CDC - Centro de Controlo e Prevenção de Doenças

CEM - Centro de Exames Móveis

CRP - *C-Reactive Protein*

G - Gengiva

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HsCRP - *High Sensitivity C-Reactive Protein*

HSCs – Células Estaminais Hematopoiéticas

IL - Interleucina

IMC - Índice de Massa Corporal

LDR – Percentagem da largura de distribuição dos eritrócitos

LOC - *Lab-on-a-chip*

MCH - Hemoglobina Corpuscular Média

MCHC - Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média

MCV - Volume Corpuscular Médio

MEMS - Sistemas Microeletromecânicos

MPV - Volume Plaquetário Médio

NC – Neutropenia Cíclica

NCHS - Centro Nacional de Estatísticas de Saúde

NHANES - *National Health and Nutrition Examination Survey*

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCA - Análise de Componentes Principais

Pg - Complexo Vermelho da *Porphyromonas gingivalis*

PISA - Área de Superfície Periodontal Inflamada

PL - Ligamento Periodontal

PPD - Profundidade da Bolsa Periodontal

pSII - Índice Periodontal de Imuno-inflamação Sistémica

RANK L – Ligando do Fator Nuclear Kappa B

RBC - Glóbulos Vermelhos

RC - Cemento Radicular

RCDW - Largura de Distribuição dos Eritrócitos

ROC – Receiving operating characteristic

SII - Índice de Imuno-Inflamação Sistémica

TLRs – Recetores tipo troll

TNF – Fator de Necrose Tumoral

TP – Tratamento Periodontal

TRIPOD - Modelo de Previsão Multivariável para o Prognóstico de Diagnóstico Individual

WBC - Glóbulos Brancos

I. INTRODUÇÃO

1. PERIODONTITE

As doenças periodontais são um grupo de doenças que afetam o periodonto (as estruturas circundantes e de suporte do dente), e podem ser divididas em gengivite e periodontite (Caton et al., 2018; Lang & Bartold, 2018).

A doença periodontal é uma doença inflamatória crónica iniciada por um biofilme dentário disbiótico e acompanhada por uma progressiva destruição dos tecidos periodontais (Darveau, 2010; D. Kinane & Marshall, 2001). Tem implicações locais e sistémicas (G. Hajishengallis, 2015) sendo que as bactérias e os seus produtos afetam progressivamente a integridade do periodonto, o que pode causar uma inflamação local e consequentemente uma resposta sistémica (Machado et al., 2021).

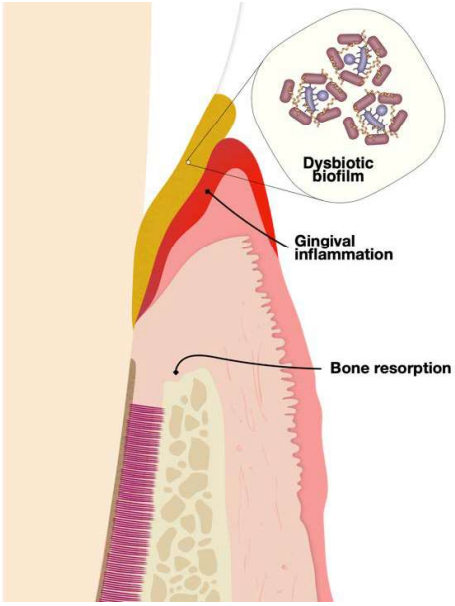

Figura 1 | ***Efeito do biofilme disbiótico no periodonto.***

A doença periodontal inicia-se por um biofilme disbiótico que causa uma inflamação gengival generalizada e leva a uma progressiva destruição dos tecidos que suportam o dente, como a reabsorção óssea.

A doença periodontal é descrita como uma perda progressiva da integridade dos tecidos de suporte dos dentes, sangramento gengival e halitose (Slots, 2017). A periodontite é induzida pela perturbação do equilíbrio entre a defesa do hospedeiro e a microflora subgengival, levando ao descolamento do tecido conjuntivo, perda de osso alveolar e

formação de bolsas periodontais patológicas (Lee & Lee, 2019). Os ligamentos periodontais e o osso alveolar são afetados o que resulta em bolsas periodontais patológicas que são os sinais clínicos preponderantes da doença (D. F. Kinane et al., 2017).

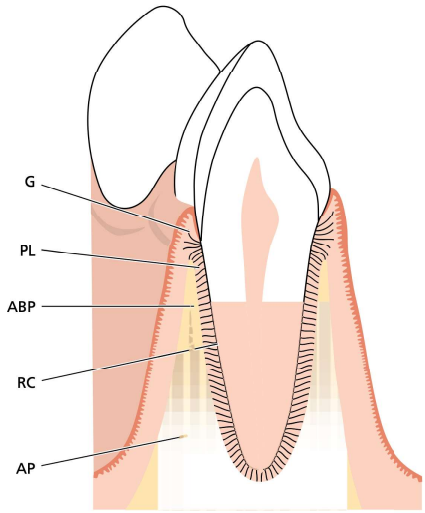

Figura 2 | ***Tecidos compreendidos pelo periodonto.***

O Periodonto (Peri significa "ao redor" e odonto significa "dente") compreende os seguintes tecidos: gengiva (G), ligamento periodontal (PL), cemento radicular (RC) e osso alveolar propriamente dito (ABP). O ABP reveste o alvéolo do dente e é contínuo com o osso alveolar (AP). O processo alveolar que se estende a partir do osso basal da maxila e da mandíbula é constituído pelo ABP e AP (Lang & Lindhe, 2015, 3).

A periodontite é uma doença multifatorial associada a biofilmes de placa disbiótica (Papapanou et al., 2018), não é transmissível e resulta de uma acumulação de biofilme oral à volta dos dentes, provocando uma reação exacerbada do sistema imunitário que destrói o periodonto (Machado et al., 2021).

As doenças periodontais, que incluem a gengivite e a periodontite, são provavelmente as doenças mais comuns da humanidade (Tonetti et al., 2017). A periodontite é a 6ª doença mais prevalente em todo o mundo com perto de 743 milhões de pessoas afetadas (Tonetti et al., 2017). É uma das principais causas de perda dentária em todo o mundo (Petersen & Ogawa, 2012) e assim um grande problema de saúde pública como consequência da sua alta prevalência (Papapanou et al., 2018). De acordo com um estudo recente, ao longo da última década (2011-2020), a prevalência global da periodontite foi estimada em cerca de 60%, com a sua fase grave a afetar quase 25% da população (Trindade et al., 2023).

Quando comparados com estudos anteriores, estes resultados apresentam uma alta relevância clínica dada a prevalência persistentemente elevada da periodontite a nível mundial (Trindade et al., 2023). Estes indivíduos estão em risco de edentulismo e disfunção mastigatória, afetando assim a sua nutrição, qualidade de vida e autoestima, assim como enormes impactos socioeconómicos e custos de saúde (Chapple, 2014; Chapple et al., 2015).

A prevalência global da periodontite aumenta com a idade e a incidência aumenta ativamente em adultos com idades entre 30 e 40 anos (Jepsen et al., 2017). O modelo atual da doença periodontal retrata perfis de risco distintos relacionados às condições de vida, fatores ambientais e comportamentais e aos sistemas de saúde oral (Petersen & Ogawa, 2012).

1.1. Manifestações Clínicas

Na superfície do dente, é possível encontrar uma comunidade diversa de microrganismos conhecida como placa bacteriana dentária, preferencialmente em áreas onde a escovagem não consegue chegar (Marsh, 2004). Após a sua formação inicial, a composição da microflora presente na placa tende a manter-se estável. No entanto, caso ocorram variações nessa composição, diferentes tipos de bactérias presentes na placa subgengival podem perturbar o equilíbrio fisiológico (G. Hajishengallis, 2015). Essa perturbação da homeostasia do periodonto resulta num aumento da inflamação gengival, acompanhada da transformação para um exsudado inflamatório. Além disso, observa-se o aprofundamento do sulco gengival e a formação de uma bolsa periodontal patológica, na qual o epitélio juncional é convertido em "epitélio de bolsa" (Ebersole, 2003; Nibali, 2018).

Assim, clinicamente, a periodontite caracteriza-se por uma perda de inserção detetada em dois ou mais locais interproximais não adjacentes ou pela perda de inserção de 3 mm ou mais em vestibular ou lingual/palatino em pelo menos 2 dentes, sem que tenha como causa: 1) recessão gengival de origem traumática; 2) cárie dentária estendendo-se até à área cervical do dente; 3) presença de perda de inserção na face distal de um segundo molar, associado ao mau posicionamento ou à extração do terceiro molar; 4) lesão endoperiodontal drenando através do periodonto marginal; ou 5) ocorrência de fratura radicular vertical (Steffens & Marcantonio, 2018).

No que se refere às características primárias da periodontite, estas incluem a perda de suporte tecidual periodontal, manifestada clinicamente por uma perda anormal de inserção clínica (CAL) e perda óssea alveolar avaliada clínica e radiograficamente, presença de bolsas periodontais, sangramento gengival e inflamação (Fischer et al., 2020; Papapanou et al., 2018). No entanto, as fases iniciais da doença periodontal não apresentam frequentemente sintomas, e um número significativo de pacientes afetados não procura cuidados profissionais, podendo assim avançar como uma doença silenciosa (Fischer et al., 2020; Jin, 2015).

Assim, o diagnóstico e tratamento precoces da periodontite, bem como a educação dos pacientes para a autopercepção da doença, são cruciais para a prevenção dos impactos negativos e para o controlo da doença (Machado et al., 2020).

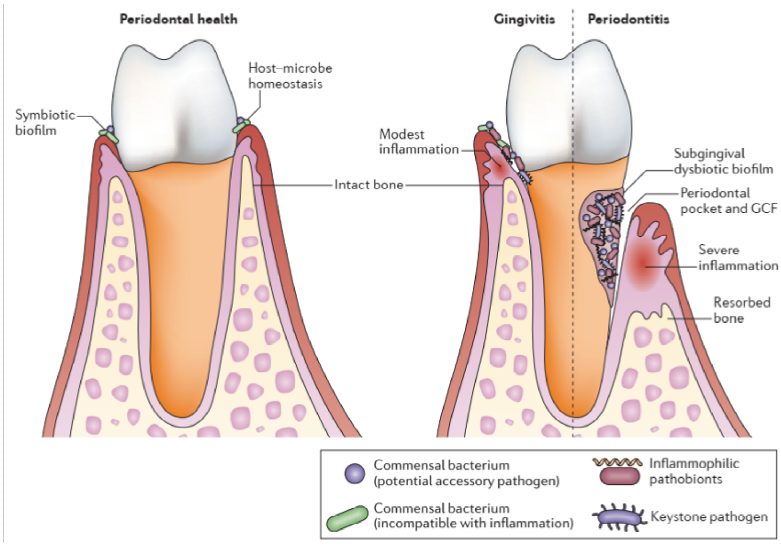

Figura 3 | ***Diferenças entre dente saudável e dente com doença periodontal, incluindo as características primárias da doença periodontal.***

A interação do biofilme subgengival desencadeia, num periodonto saudável, uma resposta imunológica adequada por parte do sistema imunológico do hospedeiro, verificando-se um estado de equilíbrio entre o hospedeiro e a flora subgengival (lado esquerdo). Quando a placa bacteriana supra-gengival é depositada continuamente ocorre uma leve inflamação gengival (gengivite) (centro). Se este processo não for interrompido, ao longo do tempo, principalmente em hospedeiros predispostos, as bactérias comensais podem desencadear uma resposta inflamatória mais intensa e promover alterações na composição microbiana. Isto afeta o sistema imunológico do hospedeiro levando à formação de bolsas periodontais e perda de osso alveolar (lado direito) (G. Hajishengallis, 2015).

Assim, o biofilme oral deve ser removido de forma regular para não favorecer espécies bacterianas, como a *Fusobacterium nucleatum*, que podem levar a uma forte resposta imunológica, promovendo a inflamação gengival, que com os nutrientes disponíveis promove o crescimento de *Porphyromonas gingivalis*, fortemente associada à periodontite grave (Meyle & Chapple, 2015). Em pacientes vulneráveis pode levar a uma resposta imune exacerbada, o que potencia o stress oxidativo, excesso de citocinas e metaloproteinases da matriz que, como consequência, danificam o tecido periodontal (Meyle & Chapple, 2015).

A doença periodontal é assim caracterizada por uma excessiva inflamação gengival com um infiltrado celular inflamatório díspar e uma sucessão de mediadores pró-inflamatórios que não está apenas restrito aos tecidos gengivais, mas também está envolvido em alterações sistémicas do hospedeiro (Botelho et al., 2021).

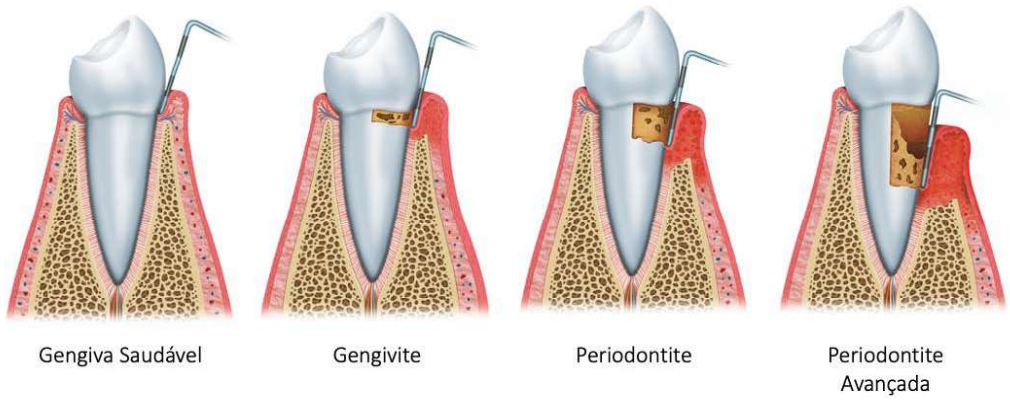

Figura 4 | **Evolução de um dente saudável para um dente com periodontite (original).**

1.2. Fatores e Indicadores de Risco

Os indicadores de risco associados à periodontite são frequentemente controláveis (Bouchard et al., 2017). Estes indicadores podem ser autocontrolados ou tratados por profissionais de saúde, e incluem hábitos, como o tabagismo e o consumo excessivo de álcool, e problemas de saúde, como diabetes descontrolada, obesidade, stress, entre outros (Bouchard et al., 2017; Burt, 2005; Preshaw et al., 2012; Wang et al., 2016).

Para além da má higiene oral, o consumo de tabaco, a desnutrição, o consumo desmedido de álcool, o stress, a diabetes mellitus e outras condições sistémicas, são também importantes indicadores de risco para a doença periodontal grave (Petersen & Ogawa, 2012).

Além de levar à perda de dentes, a periodontite pode também ter um impacto negativo na saúde geral, aumentando o risco do paciente para uma série de doenças sistémicas, tais como doenças cardiovasculares, doença renal crónica, diabetes mellitus, artrite reumatóide, resultados adversos na gravidez, cancro, entre outras (Borgnakke, 2015; Chambrone et al., 2013; Graziani et al., 2018; Humphrey et al., 2008; Ide & Papapanou, 2013; Whitmore & Lamont, 2014).

Está amplamente comprovado que indivíduos com diabetes têm um risco superior de ter doença periodontal, tendo esta sido considerada a sexta maior complicação da diabetes (Petersen & Ogawa, 2012). Diversas pesquisas demonstraram também o impacto negativo da infeção pelo HIV na saúde oral como consequência do comprometimento do sistema imunológico e o mau estado de higiene oral, e por isso estas pessoas são mais vulneráveis à doença periodontal (Petersen & Ogawa, 2012).

A modificação destes indicadores de risco é crucial para a gestão da doença periodontal (Genco & Borgnakke, 2013).

A idade, o género e a etnia, não podem ser alterados sendo também eles indicadores de risco, mas fornecem o conhecimento necessário para direcionar o tratamento específico para os doentes com maior suscetibilidade (Bouchard et al., 2017).

A periodontite pode ser prevenida, facilmente diagnosticada e totalmente tratada e controlada com sucesso após cuidados profissionais adequados e prevenção secundária a longo prazo (Tonetti et al., 2017). A prestação de cuidados periodontais adequados a cada doente requer uma avaliação diagnóstica e prognóstica completa do caso e o acesso a tratamentos eficazes para controlar a inflamação e evitar a perda de dentes (Tonetti et al., 2017).

Existem várias opções não cirúrgicas e cirúrgicas para tratar a doença periodontal (Graziani et al., 2018). O tratamento periodontal tem como objetivo controlar a gengivite e a periodontite, evitar a progressão da doença que conduz à perda de dentes, manter uma dentição funcional durante toda a vida, preservar a autoestima e melhorar a qualidade de vida (Tonetti et al., 2017).

2. IMUNO-INFLAMAÇÃO E MARCADORES CIRCULATÓRIOS

A inflamação é uma resposta imune chave do hospedeiro desencadeada por uma variedade de fatores, incluindo patógenos, células danificadas e substâncias tóxicas (Tang et al., 2022). Alterações celulares e humorais são iniciadas pelo hospedeiro quando um novo estímulo inflamatório é identificado. Monitorizar a inflamação do corpo ao longo dos anos foi possível graças a uma variedade de biomarcadores celulares e circulantes (Watson et al., 2016).

Quando a inflamação aguda se resolve e uma resposta crónica ocorre, importantes implicações sistémicas podem ocorrer. Todas as doenças não transmissíveis, incluindo a diabetes e as doenças cardiovasculares, têm uma base inflamatória crónica comum (Furman et al., 2019).

Existe uma forte associação entre a periodontite e alterações hematológicas (Botelho et al., 2021). Estudos recentes mostram que a periodontite está relacionada a uma maior contagem de leucócitos e diminui em algumas linhagens de eritrócitos e plaquetas. Nestes mesmos estudos, o tratamento periodontal não cirúrgico foi associado a uma diminuição na contagem de leucócitos (Botelho et al., 2021). O aumento da contagem de leucócitos e neutrófilos refletem a resposta inflamatória do corpo a uma infeção do periodonto, mostrando o papel da periodontite como indutora de inflamação (Botelho et al., 2021).

Níveis elevados de leucócitos e inflamação crónica podem também contribuir para o desenvolvimento de complicações macro e microvasculares na diabetes (Tong et al., 2004). A inflamação é assim a chave para o desenvolvimento de complicações de doenças cardiovasculares e da diabetes (Ruparelia et al., 2017). De forma geral, a resposta inflamatória à infeção periodontal adquire particular relevância em pacientes sistemicamente comprometidos com doenças não transmissíveis (Botelho et al., 2021).

A resposta inflamatória gengival é caracterizada por um denso infiltrado inflamatório rico em leucócitos, que por sua vez pode ser depositado na circulação sistémica (Ryder, 2010). Outra hipótese para a associação entre periodontite e o aumento da contagem de leucócitos e neutrófilos, é a interação contínua inflamatória e bacteriana local que pode estimular a medula óssea a produzir um número cronicamente maior de células inflamatórias (Belkaid & Hand, 2014). Além disso, as bactérias periodontais podem invadir os tecidos periodontais através do epitélio ulcerado e desencadear uma resposta sistémica para neutralizar qualquer efeito prejudicial (Botelho et al., 2021).

Existe ainda uma redução consistente na contagem de leucócitos após tratamento periodontal básico, sendo que o tratamento periodontal (que resulta na resolução da resposta inflamatória local) pode aliviar as alterações inflamatórias celulares crónicas (Botelho et al., 2021). Deste modo, a periodontite foi então associada a um aumento na contagem de glóbulos brancos, neutrófilos e basófilos em pacientes com doença periodontal (Botelho et al., 2021) .

3. SAÚDE PERIODONTAL E DISTÚRBIOS SANGUÍNEOS

O tecido hematopoético é um tecido plurifacetado envolvido em trabéculas esponjosas e encarregue pela hematopoiese (processo contínuo e regulado de renovação de todas as linhas de células sanguíneas). Este tecido é incessantemente ativado por estímulos externos e internos (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

A inflamação é um estímulo externo que modula a atividade das células sanguíneas por quimiotaxia ou por apoptose. Esta modulação depende da capacidade de autorrenovação deste sistema a partir das células estaminais hematopoiéticas (HSCs). No entanto um processo inflamatório ininterrupto tem consequências nocivas na medula óssea, onde as HSCs se adaptam impulsionando o processo inflamatório (Chavakis et al., 2019; Pietras, 2017).

Entre as várias causas da inflamação, temos a periodontite, que é uma condição inflamatória crónica promovida por uma perturbação polimicrobiana da microbiota oral (G. Hajishengallis, 2015).

A periodontite pode causar repercussões sistémicas fundamentalmente incitadas por subprodutos inflamatórios e tóxicos das bactérias periodontais (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

Da perspetiva hematogénica, a periodontite apresenta padrões hematológicos variados, com a existência de leucocitose e/ou valores anémicos. Por esta razão a periodontite tem estado associada a distúrbios sanguíneos (condições hematogénicas, por alteração de elementos, distúrbios hemorrágicos e/ou condições malignas) (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

O estado de leucocitose é explicado diretamente pela reação do sistema imunitário à doença periodontal, mas o estado anémico é ainda intrigante (Taichman, 2005).

3.1.Bacteriemia associada à periodontite e consequente inflamação sistémica

Após o início da periodontite, uma série de cascatas inflamatórias e mediadores são libertados tanto no local como sistemicamente (interleucina (IL)-1β, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF)-α) (Ebersole et al., 2016).

Consequentemente a esta libertação, o epitélio ulcerado torna-se uma obstáculo inadequado para a difusão de bactérias periodontais através da corrente sanguínea. As bactérias periodontais, já na corrente sanguínea, aumentam os níveis séricos de IL-6 e proteína C-reativa, exacerbando o estado inflamatório crónico (Botelho, Machado & Mendes, 2021; Darveau, 2010).

Outra via de disseminação assenta nas bactérias periodontais presentes na saliva que são ingeridas e percorrem o sistema digestivo. Estas vão colonizar no intestino causando uma colite localizada através da circulação de IL-1β excretada por macrófagos inflamatórios e difundindo a ação dos sistemas imunitários inato e adaptativo (G. Hajishengallis & Chavakis, 2021).

O sistema circulatório é o principal condutor da disseminação sistémica dos produtos tóxicos periodontais. Estes invasores intensificam a carga inflamatória agravando o estado inflamatório sistémico com consequências destrutivas. A inflamação é um modelador da medula óssea, sendo a periodontite um potencial estímulo ativo. Assim as bactérias e a inflamação sistémica relativas à periodontite podem exercer um papel de imunomodelação sobre as HSCs (Botelho et al., 2021).

3.2.Imunomodelação das HSCs na inflamação periodontal

As HSCs são capazes de responder a eventos variados como a inflamação (Chavakis et al., 2019).

Várias são as condições que podem modelar a diferenciação de determinadas linhagens características da medula óssea, como os recetores tipo *toll* (TLRs), fatores de crescimento, citocinas ou também a imunidade adaptativa. Estes estão largamente implicados na periodontite. Para além disso a imunidade adaptativa tem sido considerada como potencialmente implicada na infeção periodontal (Botelho, Machado & Mendes, 2021; Mitroulis et al., 2018).

A imunidade adaptativa é a capacidade imunológica de enfrentar agentes patogénicos já encarados no passado, o que permite uma resposta mais forte e rápida. Ainda que esta tenha sido associada à periodontite, pouco se sabe de que forma (Netea et al., 2020).

De modo a perceber se a bactérias periodontais podem regular determinadas linhagens sanguíneas na medula óssea, estudos recentes analisaram como o complexo vermelho *Porphyromonas gingivalis* (Pg) pode modular a diferenciação osteoclastogénica. Estudos mostraram que o Pg regula a diferenciação osteoclastogénica induzida pelo ligando do fator nuclear Kappa B (RANKL) e inibe os precursores de osteoclastos não comprometidos. O Pg foi ainda capaz de regular positivamente uma população osteoclastogénica específica de células da medula óssea e periféricas. Esta população exibiu uma atividade imunossupressora de células T específicas de antigénio, promovendo a persistência da infeção periodontal e comprometendo as respostas imunitárias do hospedeiro ((Botelho, Machado & Mendes, 2021; P. Zhang et al., 2011).

Além disso, o estado sucessivo de inflamação de baixo grau, juntamente com esta população específica, aumenta os precursores osteoclastogénicos a partir de células supressoras derivadas de mieloides, aumentando a perda óssea associada à idade (Li et al., 2021).

Assim, existe um potencial efeito imunomodelador do Pg em diferentes linhagens de precursores de osteoclastos e também na imunossupressão (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

Para além disso, as proteínas associadas aos mieloides são outro grupo de marcadores com relevância periodontal. Estas proteínas são as principais proteínas de ligação ao cálcio e são produzidas em fases precisas de diferenciação, estando incorporadas estruturalmente em neutrófilos e monócitos circulantes. Estas proteínas estão presentes em fluídos inflamatórios e por isso têm sido estudadas na periodontite (Odink et al., 1987).

Os níveis salivares de marcadores relacionados com os mieloides têm sido divulgados para potencial rastreio em pacientes com periodontite, no início e após o tratamento periodontal, por apresentarem uma correlação significativa com o agravamento das medidas periodontais (Andersen et al., 2010; Lira-Junior et al., 2021).

O destino das linhagens de glóbulos vermelhos parece estar dependente de um estado de infeção periodontal (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

Estudos mostraram que pacientes com periodontite revelam biomarcadores séricos de anemia, com níveis decrescidos de glóbulos vermelhos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média quando comparados com indivíduos periodontalmente saudáveis. Em alguns casos esta redução não chega a valores anémicos, mas existe de facto uma diminuição dos marcadores eritrocitários (Botelho et al., 2021; França et al., 2019; Wu et al., 2020).

Este fenómeno é consequência de um estado de anemia de inflamação (AI), que é um tipo de anemia em indivíduos que sofrem de condições inflamatórias crónicas. Embora os mecanismos através dos quais a AI ocorre não estejam totalmente estabelecidos, foram propostas 2 vias: 1) as citocinas pró-inflamatórias (IL-6) desencadeiam a produção de hepcidina, um regulador do metabolismo do ferro, resultando numa maior captura de ferro no interior dos macrófagos e das células hepáticas; 2) o processo inflamatório perturba a eritropoiese e pode encurtar a sobrevivência dos eritrócitos (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

No que diz respeito à hepcidina, estimou-se que os indivíduos com periodontite apresentavam níveis mais elevados do que os controlos saudáveis. Estudos mostraram que após a indução de periodontite em ratos, estes apresentaram hemácias, hemoglobina e hematócrito mais baixos e níveis aumentados de hepcidina sérica e expressão do mRNA da hepcidina. Além disso, a IL-6 foi confirmada como indutora da expressão mRNA da hepcidina e da secreção de hepcidina através do tratamento de hepatócitos com esta citocina (Wu et al., 2020).

Na AI, a inflamação sistémica (via IL-6 e IL1-β) é um potente indutor de hepcidina e a IL1-β e TNF-α impedem a formação de eritropoietina pelas células renais. Assim, outra teoria é a pressão inflamatória sobre a atividade eritropoiética (Weiss et al., 2019).

3.3.O efeito hematogénico do tratamento periodontal

O tratamento periodontal (TP) *gold standard* consiste num desbridamento subgengival não cirúrgico para remover tecidos duros e moles na superfície radicular das bolsas periodontais patológicas existentes. Em casos graves, podem ser efetuados procedimentos cirúrgicos, resultando numa redução muito mais duradoura da profundidade de sondagem e num aumento de fixação clínica (Krishna & De Stefano, 2016).

Um TP eficaz garante resultados clínicos significativos e a recuperação da qualidade de vida dos pacientes. Juntamente com outras áreas da medicina, explorou-se o impacto do TP na saúde sistémica, revelando um efeito positivo do TP na diabetes e em doenças cardiovasculares (Botelho, Machado & Mendes, 2021; Graziani et al., 2017).

O principal efeito do TP parece ocorrer devido à redução da carga inflamatória. Do ponto de vista inflamatório, os níveis de proteína C-reativa estão elevados nos casos de periodontite e aumentam ainda mais nos casos mais graves (Machado et al., 2021).

Já após o TP invasivo, há um pico agudo de proteína C-reativa nos primeiros dias, seguindo numa diminuição e regularização, enquanto num TP não invasivo há uma redução progressiva da proteína C-reativa até 6 meses. A evidência sobre as consequências deste pico nas doenças sistémicas estabelecidas ainda é pouco significativa (Machado et al., 2021).

O TP foi também confirmado como eficaz na melhoria da leucocitose associada à infeção periodontal. Relativamente à linhagem vermelha (eritrócitos, hemoglobina e hematócrito), estudos relataram melhoras aos 3 meses após o TP. Já o TP invasivo não altera a ativação plaquetária até aos 3 meses (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

3.4.Manifestações periodontais de doenças do sangue

Os distúrbios sanguíneos sistémicos podem perturbar o periodonto, tanto em estados saudáveis como doentes (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

Uma característica patognomónica da periodontite é a acumulação de um infiltrado de leucócitos na lesão periodontal, confirmada por observação histológica. Esta marca mostra a reação do sistema imunitário (E. Hajishengallis & Hajishengallis, 2014). Para além das reações imunitárias e inflamatórias, outras células não relacionadas com a defesa (eritrócitos e plaquetas) são essenciais para o suporte do periodonto, promovendo a perfusão dos tecidos, a nutrição e homeostasia da coagulação (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

Assim, o estado periodontal de indivíduos com distúrbios sanguíneos tem sido sempre um tópico de interesse porque características como a hemorragia gengival ou a reação imunológica periodontal podem ser alteradas (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

3.5.Distúrbios de Glóbulos Brancos

Foram mencionadas complicações periodontais em várias condições de neutropenia. Esta é caracterizada por uma diminuição ou ausência de neutrófilos ou leucócitos polimorfonucleares. Aqui, o risco de infeção é maior porque os doentes não têm neutrófilos suficientes para combater a doença (Deas et al., 2003).

A neutropenia cíclica (NC) é uma doença hematogénica rara caracterizada por uma depleção cíclica grave do número de neutrófilos produzidos na medula óssea, juntamente com a variação de outras células sanguíneas, nomeadamente monócitos, eosinófilos, linfócitos e plaquetas (Guerry et al., 1973). A gengivite é uma condição infeciosa frequente na NC (Dale & Hammond, 1988). Vários casos relataram a existência de um padrão rápido de destruição periodontal idêntico à periodontite grave. No entanto, os dados são limitados devido à raridade da NC (Prichard et al., 1984). O mecanismo preciso de como a oscilação dos neutrófilos influencia a doença periodontal não é bem compreendido. Ainda assim, a insuficiência de neutrófilos periodontais pode condicionar a microbiota subgengival, na presença de placa bacteriana (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

A doença periodontal é uma caraterística frequente das leucemias, que são distúrbios sanguíneos caracterizados por uma proliferação irregular de leucócitos na medula óssea. Um sintoma comum da leucemia é o aumento gengival generalizado, sendo observado em 36% dos doentes com leucemia aguda e 10% dos doentes com leucemia crónica. Estas repercussões gengivais são causadas por trombocitopenia, deficiência de fatores de coagulação e infiltração de células leucémicas na gengiva e estão provavelmente relacionados com a possibilidade de haver um epitélio gengival fino e atrófico (Botelho, Machado & Mendes, 2021; Lynch & Ship, 1967).

No entanto, estas alterações sistémicas não são pré-requisitos para as lesões periodontais, embora possam aumentar a resposta gengival na presença de inflamação induzida pela placa bacteriana. Nos casos periodontais, a rápida perda óssea alveolar pode ser uma consequência da exacerbação da periodontite pré-existente ou de regimes de quimioterapia ou radioterapia (D. Kinane & Marshall, 2001).

3.6.Doenças dos Glóbulos Vermelhos

A anemia é uma condição caracterizada pela redução de hemoglobina ou do número de hemácias (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

Relativamente à sua associação com a periodontite, foi proposto que a anemia aplástica está relacionada com a periodontite. A anemia aplástica ocorre quando uma medula óssea hipocelular produz um número insuficiente de HSCs e leva a uma produção deficiente de eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Nestes casos, a pancitopenia generalizada diminui muito o total de glóbulos brancos e os pacientes são mais propensos a infeções sistémicas, como a periodontite. Consequentemente, a própria associação depende da depleção de leucócitos como resultado da pancitopenia na medula óssea anormal, e não das linhagens vermelhas em si (Botelho, Machado & Mendes, 2021; Young, 1999).

Outro tipo de anemia associada a doenças periodontais é a anemia falciforme (AF). Na AF, as hemácias com formato defeituoso são consequência de uma condição hematológica autossómica recessiva. Como resultado, a diminuição da tensão de oxigénio e as hemácias em forma de foice são suscetíveis de criar uma zona sem oxigénio no endotélio do vaso, causando a sua rutura (Rees et al., 2010). A razão pela qual os doentes com AF estão associados à doença periodontal é a resposta imuno-inflamatória frequentemente exacerbada, aumentando a possibilidade de reabsorção óssea, e a estimulação da atividade de enzimas destrutivas, como as colagenases e metaloproteinases. Normalmente, a saúde oral, nestes pacientes, não é a preocupação principal, pelo que a destruição progressiva do periodonto pode estar associada a maus hábitos de higiene oral e não à própria AF (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

3.7.Plaquetas e Distúrbios da Homeostasia

Os trombócitos ou plaquetas são vitais para a homeostasia, para reparar os danos nos vasos sanguíneos e impedir a hemorragia (Ziebolz et al., 2011).

Os pacientes com distúrbios congénitos da coagulação foram associados a níveis mais altos de perda óssea alveolar e a prevalência de periodontite moderada e grave foi superior à dos controlos saudáveis (Ziebolz et al., 2011).

Assim, a ligação entre a saúde periodontal e as doenças do sangue parece possível. A inflamação sistémica resultante da periodontite provoca uma cascata de acontecimentos

que modulam o destino da diferenciação de determinadas células na medula óssea. Além disso, a carga inflamatória resultante da periodontite parece interferir com a atividade eritropoiética (Botelho, Machado & Mendes, 2021).

4. ÍNDICE DE IMUNO-INFLAMAÇÃO SISTÉMICA (SII)

Vários índices prognósticos baseados em inflamação e imunidade foram desenvolvidos para identificar pacientes com alto risco de recorrência e que podem ser mais difíceis de identificar usando índices tradicionais (Hu et al., 2014). No entanto, estes índices não podem refletir de forma abrangente o equilíbrio do estado inflamatório e imunológico do hospedeiro (Hu et al., 2014).

Assim, um novo índice, definido como o índice de imuno-inflamação sistémica (SII), com base na contagem de linfócitos, neutrófilos e plaquetas, foi desenvolvido para o prognóstico de pacientes com carcinoma hepatocelular (Hu et al., 2014). A evidência demonstra que o SII é um índice eficaz na reflexão do estado imunitário e inflamatório sistémico do corpo humano (Tang et al., 2022). Além disso, estudos anteriores concluíram que o SII tem aplicações potenciais na avaliação do risco e do prognóstico de várias doenças (Chen et al., 2017; Qin et al., 2022).

O SII foi definido da seguinte forma: SII = P x N/L, em que P, N e L são as contagens periféricas de plaquetas, neutrófilos e linfócitos, respetivamente (Hu et al., 2014). O baixo custo, a fácil determinação e reprodutibilidade de um hemograma completo tornam o SII uma ferramenta promissora para decisões de estratégia de tratamento na prática clínica (Hu et al., 2014).

5. OBJETIVO

Assim, com base em dados do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), este estudo retrospetivo explorou a capacidade prognóstica do SII para detetar casos de periodontite. Numa situação de previsão inadequada, tivemos como objetivo secundário desenvolver um índice alternativo com base em parâmetros sanguíneos padrão disponíveis.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. CONCEPÇÃO DO ESTUDO, LOCAL E PARTICIPANTES

O presente estudo secundário retrospetivo utilizou dados disponíveis no website do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES). O NHANES é um programa de estudo concebido para avaliar a saúde e o estado nutricional de adultos e crianças nos Estados Unidos da América (EUA). A entrevista NHANES combina questões demográficas, socioeconómicas, alimentares e relacionadas com a saúde, e a sua componente de examinação clínica consiste em medições médicas, dentárias e fisiológicas, bem como em testes laboratoriais administrados por pessoal médico. Podem ser encontrados detalhes completos sobre amostragem, conceção, registos médicos e recolha de dados periodontais em www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm (acedido a 27 de novembro de 2022). Os conjuntos de dados NHANES selecionados para este estudo compreenderam os períodos de 2009-2010, 2011-2012 e 2013-2014, a partir do website do Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) e do Centro Nacional de Estatísticas de Saúde (NCHS). Estes períodos temporais foram selecionados devido à existência de avaliação periodontal nas mesmas, juntamente com as análises sanguíneas padronizadas. Todos os participantes incluídos foram submetidos a uma avaliação do estado de saúde periodontal e forneceram um consentimento informado por escrito.

Este estudo é reportado com base na *guideline* de *report Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis* (TRIPOD) (Moons et al., 2015).

2. AVALIAÇÃO PERIODONTAL E ESTADIAMENTO

Os dados periodontais completos foram efetuados através de um processo calibrado para a recessão gengival e profundidade da bolsa periodontal (PPD), como previamente descrito (Dye & Thornton-Evans, 2007). Através destas variáveis clínicas foi calculado o nível de perda de inserção clínica (CAL), como a soma aritmética da recessão e PPD. As medições foram efetuadas de forma circunferencial (mésio-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, centro-lingual e disto-lingual), considerado o

procedimento padrão de excelência (Eke et al., 2012). Consequentemente, o número de dentes em falta também foi registado através da observação periodontal.

O estadiamento da periodontite seguiu a definição de caso conjunta da Federação Europeia de Periodontologia e da Academia Americana de Periodontologia do *Workshop* Mundial em 2017 (Tonetti et al., 2018). Um paciente era um caso de periodontite se a CAL interdental fosse identificada em pelo menos 2 dentes não adjacentes ou se tivesse CAL vestibular ou lingual ≥3 mm com PPD>3 mm detetável em pelo menos 2 dentes (Tonetti et al., 2018). Em seguida, foi classificado cada caso em conformidade, como estádio I, II ou III/IV.

3. MARCADORES CIRCULATÓRIOS DO SANGUE

De acordo com o protocolo do NHANES 2011-2014, o método *Beckman Coulter* de contagem e dimensionamento, em combinação com um dispositivo automático de diluição e mistura para processamento de amostras, e um fotómetro de feixe único para a hemoglobinometria, foi utilizado para a contagem de células sanguíneas a partir de uma amostra de sangue periférico obtida durante o dia do exame do participante no Centro de Exames Móveis (CEM) do NHANES.

Considerando um estudo anterior baseado em evidências sobre os níveis padrão de um hemograma completo (Botelho et al., 2021), os seguintes marcadores circulatórios de sangue (contagens) foram incluídos como potenciais preditores: contagens de linfócitos, monócitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, hemoglobina, glóbulos brancos (WBC), hematócrito, glóbulos vermelhos (RBC) e plaquetas. Além disso, também foram considerados o volume corpuscular médio (MCV) (em fL), a hemoglobina corpuscular média (MCH) (pg/célula), a concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) (g/dL), o volume plaquetário médio (MPV) (fL) e a percentagem da largura de distribuição dos eritrócitos (LDR).

4. DESEMPENHO E ESTATÍSTICA DOS ÍNDICES DE IMUNO-INFLAMAÇÃO SISTÉMICA

Antes do desenvolvimento do novo índice, testámos a validade do existente - Índice de Imuno-inflamação sistémica (SII), quando aplicado no contexto da periodontite. O SII,

um indicador geral de inflamação sistémica, é definido da seguinte forma: SII = P × N/L, onde P, N, e L são, as contagens pré-operatórias de plaquetas, neutrófilos e linfócitos, respetivamente. O desempenho do SII, enquanto ferramenta classificadora, foi verificado através de análise "Receiving Operating Characteristic" (ROC), aplicada ao grupo de pacientes em estudo, sendo quantificada através dos indicadores estatísticos globais de desempenho desta metodologia: Área sob a Curva (AUC) e Coeficiente de Gini, enquanto medidas do poder preditivo.

Em face dos fracos resultados obtidos (valor de AUC ~0,5), foi decidido explorar a possibilidade de desenvolver um novo índice que permitisse efetuar uma classificação efetiva dos pacientes e com capacidade preditora efetiva. Para o desenvolvimento do novo índice (pSII) foi efetuada uma Análise de Componentes Principais (PCA) que permitiu identificar e classificar as 14 variáveis clínicas potencialmente passíveis de integrar o novo índice em grupos homogéneos e independentes. Esta análise exploratória permitiu identificar vários "*clusters*" (5) e efetuar uma triagem específica das variáveis a incluir no novo índice/modelo, assente nos resultados da PCA e nas matrizes de correlações.

Com base nos resultados exploratórios, foi implementada uma análise de regressão logística "*stepwise*" para identificação de um modelo preditivo, assente nas variáveis clínicas potencialmente relevantes, anteriormente identificadas na PCA. Os pressupostos da referida análise de regressão foram validados através dos indicadores estatísticos aplicáveis na elaboração de um modelo logístico. O modelo reduzido final, obtido por interação "*stepwise*", foi avaliado, quantitativamente, em termos de qualidade de ajustamento e poder preditivo (especificidade e sensibilidade).

Finalmente foi efetuada uma análise comparativa de desempenho entre o novo índice desenvolvido e o SII, com recurso aos indicadores atrás mencionados (AUC e Coeficiente de Gini).

III. RESULTADOS

1. PARTICIPANTES

Dos 30.368 participantes iniciais apenas 11.735 tinham *Valid Oral Health Status* (Periodontal) e destes apenas 9.709 tinham dados periodontais completos e foram incluídos no nosso estudo (Figura 3).

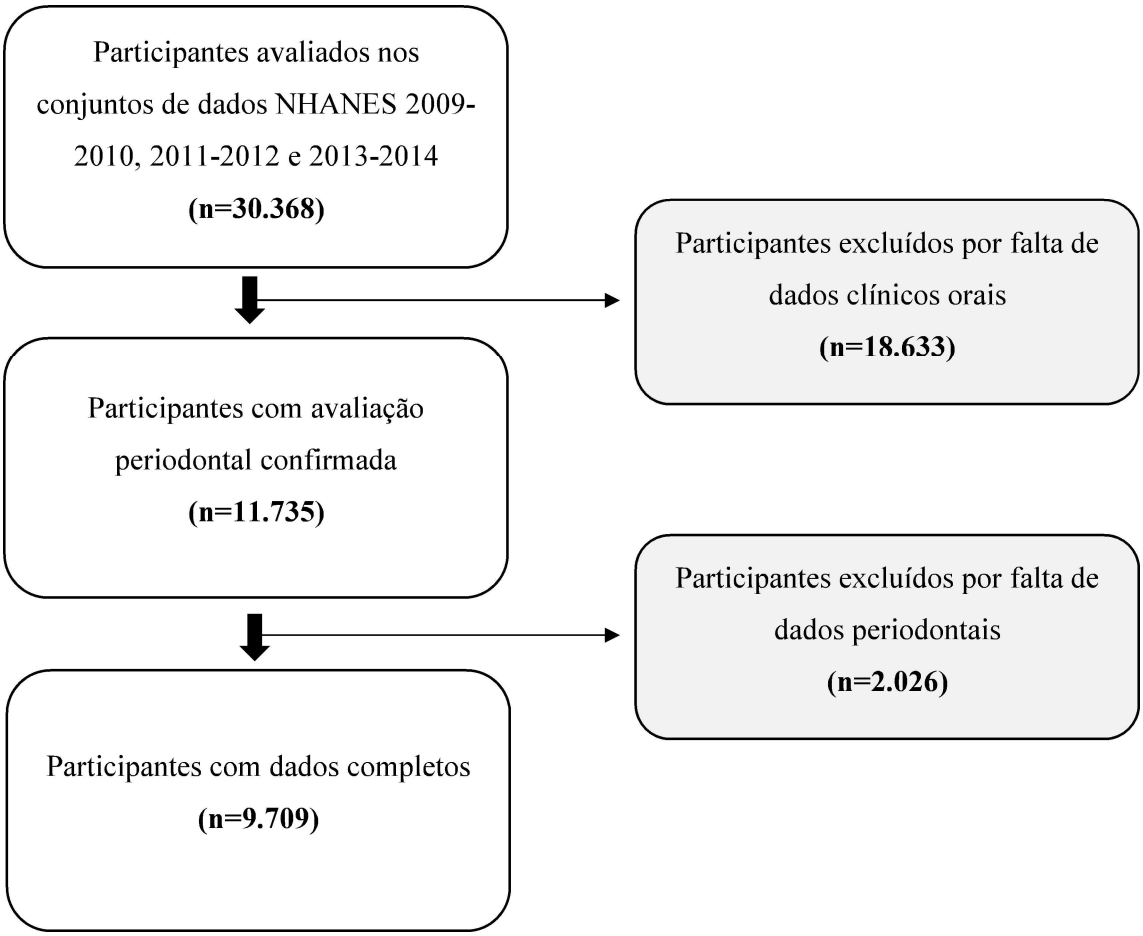

Figura 5 | ***Fluxograma dos participantes***

Assim, a nossa análise incluiu um total de 9.709 participantes elegíveis dos quais 7.634 (78.6%) apresentavam periodontite e 2.075 (21.4%) não apresentavam periodontite.

2. CARACTERÍSITICAS DO ESTUDO

A tabela 1 apresenta as características gerais dos participantes do estudo de acordo com a presença e ausência de periodontite, assim como o *p-value*. Diferenças estatisticamente significativas foram observadas entre aqueles com e sem periodontite em termos de dados sociodemográficos e condições médicas, com um p<0.001.

Particularmente, acerca dos dados dos marcadores circulatórios, verificamos que os monócitos, basófilos, plaquetas, MCH, MCHC, MPV e RCDW mostraram diferenças significativas entre ter e não ter periodontite, com p<0.001.

Tabela 1 | ***Níveis de marcadores circulatórios do sangue dos participantes, distribuídos por estado periodontal (N=9.709). Valores apresentados como média (desvio padrão).***

	Periodontite		
	Sim (n=7.634)	**Não (n=2.075)**	***p* ***
Dados Sociodemográficos			
Idade, média (SD)	49.3 (14.3)	52.7 (13.8)	**<0.001**
Feminino, % (n)	51.0 (3.897)	43.5 (903)	**<0.001**
Fumadores ativos, % (n)	19.5 (1.488)	15.6 (324)	**<0.001**
Menos que o 9ºano, % (n)	9.9 (755)	9.4 (195)	**<0.001**
Condições Médicas			
Diabetes, % (n)	13.5 (1.031)	9.0 (186)	**<0.001**
Hipertensão, % (n)	18.7 (1.425)	13.5 (280)	**<0.001**
Condições médicas crónicas, % (n)	31.3 (2.387)	30.5 (633)	**<0.001**
Marcadores Circulatórios			
WBC (contagem)	7.11 (2.45)	7.01 (2.00)	0.061
Linfócitos (contagem)	2.10 (0.94)	2.11 (0.80)	0.775
Monócitos (contagem)	0.54 (0.20)	0.53 (0.18)	**< 0.001**
Neutrófilos (contagem)	4.20 (1.93)	4.14 (1.55)	0.106
Eosinófilos (contagem)	0.20 (0.20)	0.19 (0.14)	0.046
Basófilos (contagem)	0.044 (0.078)	0.036 (0.056)	**< 0.001**
RBC (contagem)	4.61 (0.50)	4.59 (0.48)	0.132
Hemoglobina (g/dL)	13.98 (1.51)	14.04 (1.45)	0.087

Hematócrito (contagem)	41.14 (4.20)	40.94 (419)	0.059
Plaquetas (contagem)	235.44 (60.67)	244.18 (64.05)	**< 0.001**
MCV (fL)	89.55 (6.01)	89.42 (5.48)	0.345
MCH (pg/cell)	30.44 (2.50)	30.68 (2.25)	**< 0.001**
MCHC (g/dL)	33.97 (1.11)	34.30 (0.93)	**< 0.001**
MPV (fL)	8.36 (0.94)	7.86 (0.88)	**< 0.001**
RCDW (%)	13.37 (1.34)	12.85 (1.31)	**< 0.001**

*teste *t-Student* ($p < 0.05$ assinalado a negrito)

Para variáveis contínuas foi utilizado o *t-test*.

Foi aplicado o SII para a amostra de estudo para participantes com e sem periodontite. Pacientes com e sem periodontite mostraram valores pouco diferentes (518.69 vs. 519.86, p<=0.912) indicando que não é um bom índice de previsão de periodontite (Tabela 2).

Tabela 2 | ***Aplicação do SII à amostra de estudo (N=9.709).***

	Periodontite		
SII	**Sim (n=7.634)**	**Não (n=2.075)**	***p* ***
Média (SD)	518.69 (453.95)	519.86 (294.86)	0.912

*teste t-Student

Analisando a distribuição geral dos marcadores circulatórios após análise de componentes principais (PCA) das variáveis, de acordo com a matriz de componentes girados, podemos dizer que encontramos alguns padrões formando aglomerados/*clusters* entre as variáveis (Tabela 3). O componente 1 agrupa as variáveis MCV, MCH e MCHC; o componente 2 agrupa as variáveis RBC, contagem de Hemoglobina e de Hematócrito; o componente 3 agrupa as variáveis: contagem de neutrófilos, eosinófilos e basófilos; o componente 4 agrupa as variáveis: WBC, contagem de linfócitos e monócitos.

Tabela 3 | ***Distribuição geral dos marcadores circulatórios entre os componentes, após análise de componentes principais (PCA) (*) (N=9.709).***

	Componente				
Marcadores Circulatórios	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
WBC (contagem)	-0.020	0.025	0.588	**0.754**	-0.096
Linfócitos (contagem)	-0.058	-0.005	-0.044	**0.767**	-0.061
Monócitos (contagem)	0.020	0.096	0.128	**0.717**	0.036
Neutrófilos (contagem)	0.001	0.023	**0.659**	0.517	-0.095
Eosinófilos (contagem)	0.002	0.052	**0.745**	0.004	-0.014
Basófilos (contagem)	-0.11	-0.027	**0.798**	0.084	-0.023
RBC (contagem)	-0.367	**0.924**	0.032	0.032	0.010
Hemoglobina (contagem)	0.373	**0.914**	0.025	0.053	0.050
Hematócrito (%)	0.201	**0.953**	0.011	0.068	0.076
Plaquetas (contagem)	-0.180	-0.140	0.193	0.218	-0.765
MCV (fL)	**0.881**	-0.023	-0.034	0.048	0.106
MCH (pg/cell)	**0.978**	-0.017	-0.003	0.020	0.052
MCHC (g/dL)	**0.685**	0.026	0.059	-0.045	-0.081
MPV (fL)	-0.147	-0.016	0.058	0.088	**0.872**
RCDW (%)	-0.653	-0.266	0.059	0.083	0.052

*Distribuição PCA de acordo com a matriz de componentes girada, via Varimax com o método de normalização de Kaiser (variância acumulada (%) = 74.38, valor de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) = 0.902).

Na análise multivariada, 6 variáveis apresentaram valor preditivo significativo para a presença de periodontite (Tabela 4). Em particular, os basófilos (OR=4.95, 95% CI: 1.93-12.68, p<0.001), RBC (OR=4.16, 95% CI: 2.78-6.22, p<0.001), hemoglobina (OR=0.68, 95% CI: 0.59-0.77, p<0.001), MCV (OR=1.14, 95% CI: 1.11-1.16, p<0.001), MPV (OR=1.83, 95% CI: 1.72-1.94, p<0.001), RCDW (OR=1.62, 95% CI: 1.52-1.73, p<0.001).

Tabela 4 | ***Análise de regressão logística multivariada (modelo final reduzido) (*) para a variável de resultado Periodontite (Sim) (N=9.709).***

Marcadores Circulatórios (preditor)	*B*	Rácio de probabilidade (95% CI) em relação à Periodontite	*p*
Constante	-22.534	-	-
Basófilos (contagem)	1.600	4.95 (1.93-12.68)	< 0.001
RBC (contagem)	1.425	4.16 (2.78-6.22)	< 0.001
Hemoglobina (contagem)	-0.388	0.68 (0.59-0.77)	< 0.001
MCV (fL)	0.128	1.14 (1.11-1.16)	< 0.001
MPV (fL)	0.602	1.83 (1.72-1.94)	< 0.001
RCDW (%)	0.483	1.62 (1.52-1.73)	< 0.001

* O modelo foi estatisticamente significativo, χ^2 (8) = 37.657, p < 0.001, explicou 14.2% (Nagelkerke R^2) da variância e classificou corretamente 79.0% de todos os casos (98.5% dos casos de periodontite).

Fazendo uma comparação entre o SII e o novo índice proposto conseguimos perceber que o novo índice tem uma melhor performance, exibindo um valor de AUC superior (AUC=0.72, 95%CI: 0.71-0.73, p<0.001 vs. AUC=0.52, 95%CI: 0.50-0.53, p=0.034) (Tabela 5).

Tabela 5 | ***Comparação do desempenho entre o SII e o índice proposto (pSII) através da análise ROC (N=9.709).***

Índice	AUC (95% CI)	*p*	Max. K-S	Gini coeff.
SII	0.52 (0.50-0.53)	0.034	0.036	0.030
pSII (newly proposed index *)	0.72 (0.71-0.73)	<0.001	0.337	0.438

pSII - índice periodontal de imuno-inflamação sistémica

* log [prob. Periodontite (Sim)/ (1-prob. Periodontite (Sim))] = -22.534 + 1.600 * basófilos (contagem) + 1.425 * eritrócitos (contagem) - 0.388 * Hemoglobina (contagem) + 0.128 * MCV (fL) + 0.602 * MPV (fL) + 0.483 * RCDW (%)

Analisando a performance do novo índice em grupos específicos (tabela 6) percebemos que este apresenta valores moderados de AUC para os diferentes grupos apesar de não haver evidência para a diabetes e hipertensão. Mais especificamente, diabetes (AUC=0.52, 95%CI: 0.48-0.57, p=0.235), hipertensão (AUC=0.49, 95%CI: 0.46-0.53,

p<0.676), excesso de peso (AUC=0.52, 95%CI: 0.50-0.53, p<0.033) e obesidade (AUC=0.53, 95%CI: 0.51-0.55, p<0.013).

Tabela 6 | ***Desempenho do pSII para grupos específicos utilizando a análise ROC.***

Grupos	**AUC (95% CI)**	***p***
Diabetes (Sim) (n=1.217)	0.52 (0.48-0.57)	0.235
Hipertensão (Sim) (n=1.705)	0.49 (0.46-0.53)	0.676
Excesso de peso/Obesidade (IMC >=25) (n=7.107)	0.52 (0.50-0.53)	0.033
Obesidade (IMC >=30) (n=3.753)	0.53 (0.51-0.55)	0.013

IV. DISCUSSÃO

1. OBJETIVOS, RESULTADOS E IMPACTOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade do SII, anteriormente desenvolvido para situações oncológicas, na previsão clínica de periodontite. Após a confirmação de que o valor da sua performance se encontrava próxima de valores não adequados, desenvolvemos um novo índice (pSII) com o intuito de melhorar a capacidade preditiva da periodontite com base em biomarcadores inflamatórios e imunológicos.

Para atingir este objetivo, o estudo foi conduzido com uma amostra de indivíduos de um programa epidemiológico com representatividade nacional. Foi avaliada a performance do SII e comparada com o novo índice desenvolvido, doravante designado por pSII. Este foi proposto com base numa análise multivariada de biomarcadores que se mostraram relevantes para a periodontite.

Foi assim construído o novo índice de prognóstico baseado na imuno-inflamação periodontal (pSII), com base na contagem de basófilos, eritrócitos, hemoglobina, MCH, MCV e % de RCDW, que demonstrou ser um bom preditor da doença periodontal.

Os resultados indicaram que o SII apresentou uma capacidade limitada em prever a existência de periodontite, com uma sensibilidade e especificidade reduzidas. No entanto, o pSII apresentou uma capacidade significativamente melhor em prever a periodontite, com uma sensibilidade e especificidade substancialmente maiores ao SII original.

2. IMPORTÂNCIA DOS RESULTADOS NO CONTEXTO CLÍNICO E DE SAÚDE PÚBLICA

A periodontite é caracterizada por uma inflamação associada a microrganismos e mediada pelo hospedeiro, que resulta na perda do ligamento periodontal (Tonetti et al., 2018). A capacidade de interferir com a homeostasia sistémica, pela comprovada interação com diversas doenças não comunicativas, como a diabetes, obesidade e doenças cardiovasculares (Kumar, 2019), tornam estes índices preditivos de especial relevância clínica.

Assim, um índice capaz de prever a periodontite pode ter implicações significativas na prevenção e no tratamento da doença. A título de exemplo, ao identificar indivíduos em

risco de desenvolver periodontite, podem ser implementadas medidas preventivas primárias (como o controlo da placa bacteriana e a remoção do tártaro) ou mesmo, prevenção secundária (com a administração de um tratamento precoce de forma a evitar a progressão da doença e a perda de dentes).

Clinicamente, a aplicação do novo índice de imuno-inflamação sistémica pode apresentar um notável potencial, já que pode contribuir significativamente para a avaliação do estado imuno-inflamatório do paciente e na orientação das decisões de tratamento pelos profissionais de saúde. Além disso, pode ser utilizado como um indicador de prognóstico, permitindo avaliar o risco de complicações em diversas condições clínicas. Tais benefícios podem, desta forma, ter importantes implicações na prática clínica, com potencial para melhorar a qualidade dos cuidados em Medicina Dentária e tornar mais previsível o desfecho clínico dos pacientes.

Um índice que possa prever a periodontite pode também ser útil na avaliação da saúde geral de um indivíduo. Como referido, a periodontite está associada com diversas doenças crónicas (Kumar, 2019). Desta forma, pode ser utilizado como um indicador de risco indireto para estas condições e contribuir para uma gestão mais favorável destas doenças.

Prever e diagnosticar precocemente a periodontite é importante para esta poder ser evitada ou controlada com medidas preventivas e terapêuticas apropriadas. A identificação precoce de fatores e indicadores de risco pode ser essencial para sinalizar os indivíduos mais predispostos, instituir terapias personalizadas e estratégias preventivas mais eficazes (J. Zhang et al., 2011).

Posto isto, a utilização do pSII como ferramenta de prevenção nos diferentes níveis (primária, secundária e terciária) pode ser muito promissora na prática clínica, sendo que através de uma simples análise sanguínea conseguiríamos detetar tanto os indivíduos mais predispostos como os portadores de doença periodontal, para assim insistir na importância da motivação para a higiene oral, instituir a terapêutica necessária para a regressão da doença e evitar a progressão da doença periodontal.

Os serviços preventivos provaram ser um aspeto essencial dos cuidados de saúde, no entanto, parecem ser consistentemente subutilizados devido a limitações de custos, tempo e recursos médicos (Kisling, 2023).

A aplicabilidade deste índice em centros de saúde e meios hospitalares teria inúmeras vantagens como a identificação de pacientes com maior suscetibilidade e a interrupção

da progressão da doença; o controlo da resposta ao tratamento periodontal; o auxílio na tomada de decisões clínicas sobre outras doenças sistémicas associadas à doença periodontal; e ainda seria possível fazer o diagnóstico e prognóstico da doença de forma mais abrangente à população em geral.

Nos últimos anos, a evolução biotecnológica levou ao desenvolvimento de biossensores e sistemas microeletromecânicos (MEMS). Os biossensores reconhecem os analitos que são enviados aos dispositivos leitores por meio de sinais elétricos. Já os MEMS monitorizam os sistemas de biossensores usando microfluidos, microdispositivos e sistemas de microanálise total com quantidades muito menores de amostras e reagentes, reduzindo os custos, os resíduos gerados e o tempo. Estas tecnologias permitem a deteção rápida de analitos com mais sensibilidade, apresentando resultados em minutos ou até segundos, em vez de horas ou dias, como acontece no laboratório. Os avanços desta tecnologia são significativos mas a sua comercialização e tradução clínica ainda é limitada (Nguyen et al., 2018; Seker et al., 2011; Steigmann et al., 2020). *Lab-on-a-chip* (LOC) é um conjunto conceptual de MEMS que integra a função de laboratório num chip integrado (Steigmann et al., 2020). Assim, em termos de saúde pública, seria interessante a associação do pSII com uma ferramenta como o LOC, sendo que com uma pequena amostra de sangue recolhida, seria possível fazer o diagnóstico rápido da doença periodontal. Esta associação oferece a vantagem da possibilidade de realização deste teste em áreas geográficas com acesso limitado a serviços básicos como países em desenvolvimento, ou até mesmo em clínicas dentárias sem a necessidade de haver a deslocação para um centro de análises clínicas.

3. MARCADORES CIRCULATÓRIOS

A ligação causal entre a periodontite e as alterações hematológicas parece ser suficientemente robusta para pensarmos nos marcadores sanguíneos para o acompanhamento clínico desta doença. De acordo com estimativas meta-analíticas recentes, a periodontite reflete-se numa aparente leucocitose (com um aumento particular de neutrófilos) e na diminuição de algumas linhagens de eritrócitos (Botelho et al., 2021). Neste sentido, os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com esta revisão sistemática, com uma diminuição de plaquetas e um aumento de leucócitos, em particular neutrófilos, e ainda uma diminuição de eritrócitos em pacientes com periodontite.

O tratamento periodontal não cirúrgico foi associado a uma diminuição na contagem de leucócitos (Botelho et al., 2021). Assim, o pSII seria uma mais-valia para perceber não só o prognóstico dos pacientes, mas também para constatar se o tratamento periodontal efetuado foi ou não eficaz. Isto pode ser explicado pelo aumento das contagens de leucócitos e neutrófilos refletirem a resposta inflamatória do corpo a uma infeção do periodonto, confirmando o papel da periodontite como indutora de inflamação (Botelho et al., 2021).

Estes marcadores circulatórios estão amplamente descritos como biomarcadores da inflamação sistémica em doenças cardiovasculares e na diabetes (Botelho et al., 2021). Sendo estas doenças indicadores de risco para a doença periodontal, seria interessante, através do pSII, perceber as suas implicações na periodontite, antes e depois do tratamento periodontal.

Assim, clinicamente, o pSII iria contribuir para o entendimento da doença periodontal do paciente de acordo com as suas doenças sistémicas e permitir ao Médico Dentista efetuar um plano de tratamento personalizado, diminuindo os erros e aumentando o sucesso do tratamento.

Vários estudos relatam a consistente redução na contagem de leucócitos após o tratamento periodontal básico. O tratamento da periodontite resulta na resolução da resposta inflamatória local e pode também aliviar as alterações inflamatórias celulares crónicas (Botelho et al., 2021). Deste modo, após o tratamento periodontal, seria importante perceber se houve alterações na resposta inflamatória, podendo ter o pSII uma contribuição significativa nesta análise.

4. FORÇAS E LIMITAÇÕES

Este novo índice proposto utiliza a contagem de basófilos, hemoglobina, hemácias, MCV, MPV e RCDW, marcadores circulatórios facilmente obtidos através de uma acessível análise sanguínea de rotina a custos muito baixos. Assim, seria um grande benefício poder prever a doença periodontal de forma fácil, rápida, minimamente invasiva e a baixo custo. Por outro lado, tornaríamos mais acessível a toda a população, incluindo pessoas com menor poder económico e condições sociais, a possibilidade de chegar a um prognóstico da doença periodontal.

A significância preditiva do pSII seria capaz de fornecer informações prognósticas sobre a progressão da doença e a resposta ao tratamento periodontal. Assim, seria uma ajuda na tomada de decisões clínicas, particularmente na identificação de pacientes de maior risco, na escolha do tratamento mais adequado e na possibilidade de uma terapia adjuvante direcionada após a cirurgia periodontal.

O baixo custo, a fácil determinação e a reprodutibilidade de um hemograma completo fazem do pSII uma ferramenta promissora para avaliar o prognóstico da doença periodontal na prática clínica futura.

Embora o pSII seja uma ferramenta destinada a avaliar o risco de um indivíduo desenvolver doença periodontal e seja útil na previsão da probabilidade de desenvolvimento, também tem limitações de precisão. Baseia-se em modelos estatísticos que nem sempre são precisos na previsão do risco individual do doente; indicadores como a genética, o estilo de vida e outras condições médicas podem influenciar o risco de um indivíduo desenvolver a doença. No futuro, este modelo deverá ser robustecido com dados genéticos e epigenéticos por forma a aumentar a sua performance prognóstica. Por outro lado, será interessante explorar outras formas clínicas periodontais, ou seja, se este pSII recentemente desenvolvido se correlaciona com os níveis clínicos do PISA e como se comporta com um índice tridimensional de inflamação periodontal.

V. CONCLUSÕES

Apesar do SII ter uma significativa capacidade de previsão para outras doenças, na doença periodontal não mostrou ser um bom preditor de doença. O novo índice de imuno-inflamação desenvolvido apresentou uma performance maior. A proposta deste índice foi concebida de acordo com a nova classificação periodontal para prever o grau e estadio da doença periodontal, que reconhece a importância de fatores e indicadores de risco e comorbilidades associados à doença periodontal, bem como a importância do diagnóstico precoce e do tratamento personalizado.

Ao mesmo tempo, o pSII é um método não invasivo, de simples acessibilidade e de baixo custo, tendo um potencial de utilização terapêutica bastante positivo. Um índice que seja capaz de prever a periodontite pode ter implicações significativas na prevenção e tratamento da doença, bem como na avaliação do estado de saúde geral do indivíduo.

VI. PERSPETIVAS FUTURAS

Os resultados desta investigação secundária enfatizam a importância do prognóstico e diagnóstico precoce da doença periodontal, que continua a ter uma prevalência e incidência elevada e duradoura, consequência provável do crescimento e envelhecimento da população.

Assim, a proposta de um novo índice prognóstico da doença periodontal, baseado num exame acessível e de baixo custo, parece ser um importante passo para a evolução do diagnóstico e tratamento individualizado, assim como para o êxito deste. Seria ainda uma importante ferramenta de avaliação do sucesso ou fracasso do tratamento periodontal.

Sabemos também, que existem muitas condições sistémicas associadas à doença periodontal. Posto isto, o novo índice proposto seria também uma importante ajuda para a avaliação do estado de saúde geral do paciente e conseguir entender os efeitos das comorbilidades associadas ao paciente na doença periodontal, tal como verificar melhorias em ambos os níveis, periodontais e sistémicos.

Ainda em termos de saúde pública, o LOC tem mostrado um grande potencial, mas ainda existem desafios a serem superados. Com o avanço da nanotecnologia e da biotecnologia espera-se que o LOC se torne cada vez mais sofisticado e acessível de maneira a podermos também esperar uma possível associação futura com o pSII e consequente diagnóstico da doença periodontal mais acessível a toda a população.

Deste modo, num futuro próximo, seria interessante a validação clínica deste novo índice periodontal de imuno-inflamação sistémica, passo este importante para a evolução da área da Periodontologia Clínica.

VII. BIBLIOGRAFIA

Andersen, E., Dessaix, I. M., Perneger, T., & Mombelli, A. (2010). Myeloid-related protein (MRP8/14) expression in gingival crevice fluid in periodontal health and disease and after treatment. *Journal of Periodontal Research*. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01257.x

Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*, *157*(1), 121–141. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011

Borgnakke, W. S. (2015). Does Treatment of Periodontal Disease Influence Systemic Disease? *Dental Clinics of North America*, *59*(4), 885–917. https://doi.org/10.1016/j.cden.2015.06.007

Botelho, J., Machado, V., Hussain, S. B., Zehra, S. A., Proença, L., Orlandi, M., Mendes, J. J., & D'Aiuto, F. (2021). Periodontitis and circulating blood cell profiles: A systematic review and meta-analysis. *Experimental Hematology*, *93*, 1–13. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2020.10.001

Botelho, J., Machado, V., & Mendes, J. J. (2021). Periodontal Health and Blood Disorders. *Current Oral Health Reports*, *8*(4), 107–116. https://doi.org/10.1007/s40496-021-00301-w

Bouchard, P., Carra, M. C., Boillot, A., Mora, F., & Rangé, H. (2017). Risk factors in periodontology: A conceptual framework. *Journal of Clinical Periodontology*, *44*(2), 125–131. https://doi.org/10.1111/jcpe.12650

Burt, B. (2005). Position Paper:Epidemiology of Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*, *76*(8), 1406–1419. https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.8.1406

Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L. C., Jepsen, S., Kornman, K. S., Mealey, B. L., Papapanou, P. N., Sanz, M., & Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key

changes from the 1999 classification. *Journal of Clinical Periodontology*, *45*, S1–S8. https://doi.org/10.1111/jcpe.12935

Chambrone, L., Foz, A. M., Guglielmetti, M. R., Pannuti, C. M., Artese, H. P. C., Feres, M., & Romito, G. A. (2013). Periodontitis and chronic kidney disease: A systematic review of the association of diseases and the effect of periodontal treatment on estimated glomerular filtration rate. *Journal of Clinical Periodontology*, *40*(5), 443–456. https://doi.org/10.1111/jcpe.12067

Chapple, I. L. C. (2014). Time to take periodontitis seriously. *BMJ*, *348*(apr10 1), g2645–g2645. https://doi.org/10.1136/bmj.g2645

Chapple, I. L. C., Van Der Weijden, F., Doerfer, C., Herrera, D., Shapira, L., Polak, D., Madianos, P., Louropoulou, A., Machtei, E., Donos, N., Greenwell, H., Van Winkelhoff, A. J., Eren Kuru, B., Arweiler, N., Teughels, W., Aimetti, M., Molina, A., Montero, E., & Graziani, F. (2015). Primary prevention of periodontitis: Managing gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *42*, S71–S76. https://doi.org/10.1111/jcpe.12366

Chavakis, T., Mitroulis, I., & Hajishengallis, G. (2019). Hematopoietic progenitor cells as integrative hubs for adaptation to and fine-tuning of inflammation. *Nature Immunology*, *20*(7), 802–811. https://doi.org/10.1038/s41590-019-0402-5

Chen, J.-H., Zhai, E.-T., Yuan, Y.-J., Wu, K.-M., Xu, J.-B., Peng, J.-J., Chen, C.-Q., He, Y.-L., & Cai, S.-R. (2017). Systemic immune-inflammation index for predicting prognosis of colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, *23*(34), 6261. https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i34.6261

Dale, D. C., & Hammond, W. P. (1988). Cyclic neutropenia: A clinical review. *Blood Reviews*, *2*(3), 178–185. https://doi.org/10.1016/0268-960X(88)90023-9

Darveau, R. P. (2010). Periodontitis: A polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, *8*(7), 481–490. https://doi.org/10.1038/nrmicro2337

Deas, D. E., Mackey, S. A., & McDonnell, H. T. (2003). Systemic disease and

periodontitis: Manifestations of neutrophil dysfunction: *Systemic disease and periodontitis*. *Periodontology 2000*, *32*(1), 82–104. https://doi.org/10.1046/j.0906-6713.2003.03207.x

Dye, B. A., & Thornton-Evans, G. (2007). A Brief History of National Surveillance Efforts for Periodontal Disease in the United States. *Journal of Periodontology*, *78*(7s), 1373–1379. https://doi.org/10.1902/jop.2007.060210

Ebersole, J. L. (2003). Humoral immune responses in gingival crevice fluid: Local and systemic implications: Humoral immune responses in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, *31*(1), 135–166. https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2003.03109.x

Ebersole, J. L., Graves, C. L., Gonzalez, O. A., Dawson, D., Morford, L. A., Huja, P. E., Hartsfield, J. K., Huja, S. S., Pandruvada, S., & Wallet, S. M. (2016). Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontology 2000*, *72*(1), 54–75. https://doi.org/10.1111/prd.12135

Eke, P. I., Thornton-Evans, G., Dye, B., & Genco, R. (2012). Advances in Surveillance of Periodontitis: The Centers for Disease Control and Prevention Periodontal Disease Surveillance Project. *Journal of Periodontology*, *83*(11), 1337–1342. https://doi.org/10.1902/jop.2012.110676

Fischer, R. G., Lira Junior, R., Retamal-Valdes, B., Figueiredo, L. C. D., Malheiros, Z., Stewart, B., & Feres, M. (2020). Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: Treatment of periodontitis. *Brazilian Oral Research*, *34*(suppl 1), e026. https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0026

França, L. F. D. C., Da Silva, F. R. P., Di Lenardo, D., Alves, E. H. P., Nascimento, H. M. S., Da Silva, I. A. T., Vasconcelos, A. C. C. G., & Vasconcelos, D. F. P. (2019). Comparative analysis of blood parameters of the erythrocyte lineage between patients with chronic periodontitis and healthy patients: Results obtained from a meta-analysis. *Archives of Oral Biology*, *97*, 144–149. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.024

Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., Miller, A. H., Mantovani, A., Weyand, C. M., Barzilai, N., Goronzy, J. J., Rando, T. A., Effros, R. B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., & Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*, *25*(12), 1822–1832. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0

Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease: *Risk factors for periodontal diseases*. *Periodontology 2000*, *62*(1), 59–94. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x

Graziani, F., Gennai, S., Solini, A., & Petrini, M. (2018). A systematic review and meta-analysis of epidemiologic observational evidence on the effect of periodontitis on diabetes An update of the EFP-AAP review. *Journal of Clinical Periodontology*, *45*(2), 167–187. https://doi.org/10.1111/jcpe.12837

Graziani, F., Karapetsa, D., Alonso, B., & Herrera, D. (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: How many options for one disease? *Periodontology 2000*, *75*(1), 152–188. https://doi.org/10.1111/prd.12201

Guerry, D., Dale, D. C., Omine, M., Perry, S., & Wolff, S. M. (1973). Periodic Hematopoiesis in Human Cyclic Neutropenia. *Journal of Clinical Investigation*, *52*(12), 3220–3230. https://doi.org/10.1172/JCI107522

Hajishengallis, E., & Hajishengallis, G. (2014). Neutrophil Homeostasis and Periodontal Health in Children and Adults. *Journal of Dental Research*, *93*(3), 231–237. https://doi.org/10.1177/0022034513507956

Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, *15*(1), 30–44. https://doi.org/10.1038/nri3785

Hajishengallis, G., & Chavakis, T. (2021). Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nature Reviews Immunology*, *21*(7), 426–440. https://doi.org/10.1038/s41577-020-00488-6

Hu, B., Yang, X.-R., Xu, Y., Sun, Y.-F., Sun, C., Guo, W., Zhang, X., Wang, W.-M., Qiu, S.-J., Zhou, J., & Fan, J. (2014). Systemic Immune-Inflammation Index Predicts Prognosis of Patients after Curative Resection for Hepatocellular Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, *20*(23), 6212–6222. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0442

Humphrey, L. L., Fu, R., Buckley, D. I., Freeman, M., & Helfand, M. (2008). Periodontal Disease and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of General Internal Medicine*, *23*(12), 2079–2086. https://doi.org/10.1007/s11606-008-0787-6

Ide, M., & Papapanou, P. N. (2013). Epidemiology of association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes – systematic review. *Journal of Periodontology*, *84*(4-s), S181–S194. https://doi.org/10.1902/jop.2013.134009

Jepsen, S., Blanco, J., Buchalla, W., Carvalho, J. C., Dietrich, T., Dörfer, C., Eaton, K. A., Figuero, E., Frencken, J. E., Graziani, F., Higham, S. M., Kocher, T., Maltz, M., Ortiz-Vigon, A., Schmoeckel, J., Sculean, A., Tenuta, L. M. A., Van Der Veen, M. H., & Machiulskiene, V. (2017). Prevention and control of dental caries and periodontal diseases at individual and population level: Consensus report of group 3 of joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, *44*, S85–S93. https://doi.org/10.1111/jcpe.12687

Jin, L. (2015). Group E. Initiator paper. Interprofessional education and multidisciplinary teamwork for prevention and effective management of periodontal disease. *Journal of the International Academy of Periodontology*, *17*(1 Suppl), 74–79.

Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*(1), 17038. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38

Kinane, D., & Marshall, G. (2001). Peridonatal manifestations of systemic disease. *Australian Dental Journal*, *46*(1), 2–12. https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2001.tb00267.x

Kisling LA, M Das J. Prevention Strategies. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls

[Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537222/

Krishna, R., & De Stefano, J. A. (2016). Ultrasonic vs. hand instrumentation in periodontal therapy: Clinical outcomes. *Periodontology 2000*, *71*(1), 113–127. https://doi.org/10.1111/prd.12119

Kumar, S. (2019). Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dental Clinics of North America*, *63*(1), 69–81. https://doi.org/10.1016/j.cden.2018.08.005

Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018). Periodontal health. *Journal of Periodontology*, *89*, S9–S16. https://doi.org/10.1002/JPER.16-0517

Lee, E., & Lee, S.-W. (2019). Prevalence of Periodontitis and Its Association with Reduced Pulmonary Function: Results from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Medicina*, *55*(9), 581. https://doi.org/10.3390/medicina55090581

Li, Z., Zhao, Y., Chen, Z., Katz, J., Michalek, S. M., Li, Y., & Zhang, P. (2021). Age-related expansion and increased osteoclastogenic potential of myeloid-derived suppressor cells. *Molecular Immunology*, *137*, 187–200. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2021.07.004

Lira-Junior, R., Bissett, S. M., Preshaw, P. M., Taylor, J. J., & Boström, E. A. (2021). Levels of myeloid-related proteins in saliva for screening and monitoring of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, *48*(11), 1430–1440. https://doi.org/10.1111/jcpe.13534

Lynch, M. A., & Ship, I. I. (1967). Initial Oral Manifestations of Leukemia. *The Journal of the American Dental Association*, *75*(4), 932–940. https://doi.org/10.14219/jada.archive.1967.0301

Machado, V., Botelho, J., Escalda, C., Hussain, S. B., Luthra, S., Mascarenhas, P., Orlandi, M., Mendes, J. J., & D'Aiuto, F. (2021). Serum C-Reactive Protein and

Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Immunology*, *12*, 706432. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.706432

Machado, V., Botelho, J., Proença, L., & Mendes, J. J. (2020). Self-reported illness perception and oral health-related quality of life predict adherence to initial periodontal treatment. *Journal of Clinical Periodontology*, *47*(10), 1209–1218. https://doi.org/10.1111/jcpe.13337

Marsh, P. D. (2004). Dental Plaque as a Microbial Biofilm. *Caries Research*, *38*(3), 204–211. https://doi.org/10.1159/000077756

Meyle, J., & Chapple, I. (2015). Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, *69*(1), 7–17. https://doi.org/10.1111/prd.12104

Mitroulis, I., Kalafati, L., Hajishengallis, G., & Chavakis, T. (2018). Myelopoiesis in the Context of Innate Immunity. *Journal of Innate Immunity*, *10*(5–6), 365–372. https://doi.org/10.1159/000489406

Moons, K. G. M., Altman, D. G., Reitsma, J. B., Ioannidis, J. P. A., Macaskill, P., Steyerberg, E. W., Vickers, A. J., Ransohoff, D. F., & Collins, G. S. (2015). Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis Or Diagnosis (TRIPOD): Explanation and Elaboration. *Annals of Internal Medicine*, *162*(1), W1–W73. https://doi.org/10.7326/M14-0698

Netea, M. G., Domínguez-Andrés, J., Barreiro, L. B., Chavakis, T., Divangahi, M., Fuchs, E., Joosten, L. A. B., Van Der Meer, J. W. M., Mhlanga, M. M., Mulder, W. J. M., Riksen, N. P., Schlitzer, A., Schultze, J. L., Stabell Benn, C., Sun, J. C., Xavier, R. J., & Latz, E. (2020). Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, *20*(6), 375–388. https://doi.org/10.1038/s41577-020-0285-6

Nguyen, T., Zoëga Andreasen, S., Wolff, A., & Duong Bang, D. (2018). From Lab on a Chip to Point of Care Devices: The Role of Open Source Microcontrollers. *Micromachines*, *9*(8), 403. https://doi.org/10.3390/mi9080403

Nibali, L. (2018). Development of the gingival sulcus at the time of tooth eruption and the influence of genetic factors. *Periodontology 2000*, *76*(1), 35–42. https://doi.org/10.1111/prd.12158

Odink, K., Cerletti, N., Brüggen, J., Clerc, R. G., Tarcsay, L., Zwadlo, G., Gerhards, G., Schlegel, R., & Sorg, C. (1987). Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis. *Nature*, *330*(6143), 80–82. https://doi.org/10.1038/330080a0

Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., Flemmig, T. F., Garcia, R., Giannobile, W. V., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R. T., Kebschull, M., Kinane, D. F., Kirkwood, K. L., Kocher, T., Kornman, K. S., Kumar, P. S., … Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions: Classification and case definitions for periodontitis. *Journal of Periodontology*, *89*, S173–S182. https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721

Petersen, P. E., & Ogawa, H. (2012). The global burden of periodontal disease: Towards integration with chronic disease prevention and control: Global periodontal health. *Periodontology 2000*, *60*(1), 15–39. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00425.x

Pietras, E. M. (2017). Inflammation: A key regulator of hematopoietic stem cell fate in health and disease. *Blood*, *130*(15), 1693–1698. https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-780882

Preshaw, P. M., Alba, A. L., Herrera, D., Jepsen, S., Konstantinidis, A., Makrilakis, K., & Taylor, R. (2012). Periodontitis and diabetes: A two-way relationship. *Diabetologia*, *55*(1), 21–31. https://doi.org/10.1007/s00125-011-2342-y

Prichard, J. F., Ferguson, D. M., Windmiller, J., & Hurt, W. C. (1984). Prepubertal Periodontitis Affecting the Deciduous and Permanent Dentition in a Patient With Cyclic Neutropenia: A Case Report and Discussion. *Journal of Periodontology*, *55*(2), 114–122. https://doi.org/10.1902/jop.1984.55.2.114

Qin, Z., Li, H., Wang, L., Geng, J., Yang, Q., Su, B., & Liao, R. (2022). Systemic

Immune-Inflammation Index Is Associated With Increased Urinary Albumin Excretion: A Population-Based Study. *Frontiers in Immunology*, *13*, 863640. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.863640

Rees, D. C., Williams, T. N., & Gladwin, M. T. (2010). Sickle-cell disease. *The Lancet*, *376*(9757), 2018–2031. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X

Ruparelia, N., Chai, J. T., Fisher, E. A., & Choudhury, R. P. (2017). Inflammatory processes in cardiovascular disease: A route to targeted therapies. *Nature Reviews Cardiology*, *14*(3), 133–144. https://doi.org/10.1038/nrcardio.2016.185

Ryder, M. I. (2010). Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, *53*(1), 124–137. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00327.x

Seker, E., Jong Hwan Sung, Shuler, M. L., & Yarmush, M. L. (2011). Solving Medical Problems with BioMEMS. *IEEE Pulse*, *2*(6), 51–59. https://doi.org/10.1109/MPUL.2011.942928

Slots, J. (2017). Periodontitis: Facts, fallacies and the future. *Periodontology 2000*, *75*(1), 7–23. https://doi.org/10.1111/prd.12221

Steffens, J. P., & Marcantonio, R. A. C. (2018). Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares 2018: Guia Prático e Pontos-Chave. *Revista de Odontologia da UNESP*, *47*(4), 189–197. https://doi.org/10.1590/1807-2577.04704

Steigmann, L., Maekawa, S., Sima, C., Travan, S., Wang, C.-W., & Giannobile, W. V. (2020). Biosensor and Lab-on-a-chip Biomarker-identifying Technologies for Oral and Periodontal Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 588480. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.588480

Taichman, R. S. (2005). Blood and bone: Two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*, *105*(7), 2631–2639. https://doi.org/10.1182/blood-2004-06-2480

Tang, Y., Peng, B., Liu, J., Liu, Z., Xia, Y., & Geng, B. (2022). Systemic immune-inflammation index and bone mineral density in postmenopausal women: A cross-sectional study of the national health and nutrition examination survey (NHANES) 2007-2018. *Frontiers in Immunology*, *13*, 975400. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.975400

Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology*, *89*, S159–S172. https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006

Tonetti, M. S., Jepsen, S., Jin, L., & Otomo-Corgel, J. (2017). Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *Journal of Clinical Periodontology*, *44*(5), 456–462. https://doi.org/10.1111/jcpe.12732

Tong, P. C., Lee, K.-F., So, W.-Y., Ng, M. H., Chan, W.-B., Lo, M. K., Chan, N. N., & Chan, J. C. (2004). White Blood Cell Count Is Associated With Macro- and Microvascular Complications in Chinese Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, *27*(1), 216–222. https://doi.org/10.2337/diacare.27.1.216

Trindade, D., Carvalho, R., Machado, V., Chambrone, L., Mendes, J. J., & Botelho, J. (2023). Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Journal of Clinical Periodontology*, *50*(5), 604–626. https://doi.org/10.1111/jcpe.13769

Wang, J., Lv, J., Wang, W., & Jiang, X. (2016). Alcohol consumption and risk of periodontitis: A meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, *43*(7), 572–583. https://doi.org/10.1111/jcpe.12556

Watson, J., De Salis, I., Hamilton, W., & Salisbury, C. (2016). 'I'm fishing really' — inflammatory marker testing in primary care: A qualitative study. *British Journal of General Practice*, *66*(644), e200–e206. https://doi.org/10.3399/bjgp16X683857

Weiss, G., Ganz, T., & Goodnough, L. T. (2019). Anemia of inflammation. *Blood*, *133*(1), 40–50. https://doi.org/10.1182/blood-2018-06-856500

Whitmore, S. E., & Lamont, R. J. (2014). Oral Bacteria and Cancer. *PLoS Pathogens*, *10*(3), e1003933. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003933

Wu, D., Lin, Z., Zhang, S., Cao, F., Liang, D., & Zhou, X. (2020). Decreased Hemoglobin Concentration and Iron Metabolism Disorder in Periodontitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Physiology*, *10*, 1620. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01620

Young, N. S. (1999). Acquired Aplastic Anemia. *JAMA*, *282*(3), 271. https://doi.org/10.1001/jama.282.3.271

Zhang, J., Sun, X., Xiao, L., Xie, C., Xuan, D., & Luo, G. (2011). Gene polymorphisms and periodontitis: Gene polymorphisms. *Periodontology 2000*, *56*(1), 102–124. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00371.x

Zhang, P., Liu, J., Xu, Q., Harber, G., Feng, X., Michalek, S. M., & Katz, J. (2011). TLR2-dependent Modulation of Osteoclastogenesis by Porphyromonas gingivalis through Differential Induction of NFATc1 and NF-κB. *Journal of Biological Chemistry*, *286*(27), 24159–24169. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.198085

Ziebolz, D., Stühmer, C., Hornecker, E., Zapf, A., Mausberg, R. F., & Chenot, J. F. (2011). Oral health in adult patients with congenital coagulation disorders - a case control study: ORAL HEALTH IN ADULT PATIENTS WITH CONGENITAL COAGULATION DISORDERS. *Haemophilia*, *17*(3), 527–531. https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02443.x