

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA**

**VIVIAN RODRIGUES BERNHARD**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA PERIODONTAL E PERFIL MICROBIOLÓGICO  
DO BIOFILME SUBGENGIVAL EM MULHERES PORTADORAS DE  
CÂNCER DE MAMA.**

**VITÓRIA  
2015**

**VIVIAN RODRIGUES BERNHARD**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA PERIODONTAL E PERFIL MICROBIOLÓGICO  
DO BIOFILME SUBGENGIVAL EM MULHERES PORTADORAS DE  
CÂNCER DE MAMA.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Grasselli Batitucci Pinel

**VITÓRIA  
2015**

**VIVIAN RODRIGUES BERNHARD**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA PERIODONTAL E PERFIL MICROBIOLÓGICO  
DO BIOFILME SUBGENGIVAL EM MULHERES PORTADORAS DE  
CÂNCER DE MAMA.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovada em: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2015.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**  
**Orientador**

---

**Profª Drª. Roberta Grasseli Batitucci Pinel**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**  
**Co-orientadora**

---

**Profª Drª. Ana Paula Ferreira Nunes**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**

---

**Profª Dr. Fábio Matos Chiarelli**  
**Educandário São Francisco de Assis**

*“A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar”.*

**(Eduardo Galeano)**

A Deus, por me iluminar e  
dar força em toda essa caminhada.  
A minha família, pelo amor, paciência, incentivo  
e compreensão. Amo vocês! Muita gratidão!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que me deu o dom da vida dotando-me de sabedoria, saúde e força para seguir nesse caminho e não desistir.

Agradeço aos meus pais Glória Vivian Rodrigues Azevedo, Antônio José Muniz Azevedo e Pedro Luiz Bernhard (*in memoriam*); meu esposo Ernani Guerra Lima e minha sogra Edi Lima Barros, por estarem sempre ao meu lado apoiando e acompanhando cada conquista e resultado obtido, por incentivarem e me fazer acreditar que tudo seria possível.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, pela dedicação, disponibilidade, compromisso, palavras de incentivo e carinho para seguir em frente.

À minha Co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Grasselli Batitucci Pinel, essencial para o desenvolvimento da dissertação, pela sua disponibilidade, atenção, dedicação, incentivo e carinho.

Ao Núcleo de Periodontia da UFES (NUPET), por me acolher como colaboradora de suas pesquisas e estagiária docente.

A Izivania Maroly Quinderé Barreto, técnica do laboratório, pela oportunidade valiosa de aprendizado no Laboratório de Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos (UnG).

A todos os profissionais colaboradores do Ambulatório de Mastologia do HUCAM, especialmente à fisioterapeuta Cristina Oberda, pela disponibilidade e por nos ajudar a tornar possível a realização deste estudo.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Paula Ferreira Nunes por todas as considerações realizadas na qualificação da dissertação, pois foram de grande colaboração para engrandecer a parte microbiológica do estudo.

Ao Diretor do HUCAM, Dr. Luis Alberto Sobral Vieira Júnior por permitir a interação Medicina/Odontologia em pesquisas científicas e aceitar fazer parte da minha banca da qualificação colaborando com a dissertação.

Aos pacientes do Ambulatório de Mastologia do HUCAM por concordarem em participar da realização deste estudo.

Aos colegas de curso pela ajuda, espontaneidade e alegria na troca de informações e materiais numa rara demonstração de solidariedade.

A todos os professores do Mestrado em Clínica Odontológica, pelas palavras de estímulo e aprendizado.

À todos os funcionários da UFES que direta ou indiretamente com dedicação e eficiência, participaram para a realização deste projeto.

## RESUMO

O entendimento da cavidade oral como uma fonte de infecção focal à distância tem sido discutido há décadas. Neste contexto, muitos estudos consideram a doença periodontal como um fator de risco em potencial associada às doenças sistêmicas, tais como, parto prematuro e baixo peso ao nascimento, doença pulmonar, diabetes, aterosclerose e problemas cardiovasculares. Além disso, uma relação entre doença periodontal e câncer mostra que indivíduos jovens com lesões periodontais e com perda dos dentes molares possuem maior risco para morte prematura de doenças fatais, tais como, neoplasias malignas e doenças cardiovasculares. Por sua vez, outros estudos sugerem associação da periodontite com câncer de mama, próstata, pâncreas, pulmão, câncer do trato digestivo como um todo, câncer coloretal, bexiga, próstata e colo uterino. **OBJETIVO:** Avaliar a condição clínica periodontal e microbiológica do biofilme subgengival em mulheres com câncer de mama assistidas no Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) no Espírito Santo. **METODOLOGIA:** Estudo transversal com participação de 44 mulheres voluntárias com câncer de mama portadoras de doença periodontal. Parâmetros clínicos periodontais e 144 amostras de biofilme subgengival foram submetidas à extração do DNA por meio da técnica de hibridização *Checkerboard* DNA-DNA. A análise estatística caracterizou-se por meio da frequência observada, porcentagem, média, mediana e desvio padrão, além de estatísticas de testes adotando-se o nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** Bolsas periodontais de 4,0mm a 5,0mm apresentaram frequência de 59%; o nível clínico de inserção para bolsas  $\geq 6,0$ mm alcançou 71,8%; o sangramento à sondagem atingiu média de 27,6%; e a média de índice de placa visível foi de 45,7%. A bactéria *Tannerella forsythia* (62,7%) mostrou significância para bolsas moderada ( $p < 0,01$ ) e nível clínico de inserção ( $p = 0,440$ ), enquanto a bactéria *Parvimonas micra* (62,8%) apresentou significância para bolsas profundas ( $p < 0,01$ ) e nível clínico de inserção ( $p < 0,001$ ). As bactérias do complexo amarelo, *Streptococcus oralis*, *S. intermedius* e *S. gordonii* apresentaram significância para bolsas profundas e nível clínico de inserção  $\geq 6,0$ mm. **CONCLUSÃO:** Alguns estudos mostram a relação entre a carga bacteriana e o desenvolvimento e progressão do câncer, sendo justificável o controle do biofilme oral a fim de reduzir a

carga microbiana da boca para combater o desenvolvimento carcinogênico. Apesar do papel das bactérias periodontopatogênicas na etiopatogênese da lesão de câncer de mama ainda não estar esclarecida na literatura, mais estudos clínicos randomizados controlados são necessários para determinar se existe qualquer elemento causal na associação da doença periodontal e câncer de mama.

**Palavras-chave:** Doença periodontal. Câncer de mama. Microbiota Oral. Biofilme subgengival.

## ABSTRACT

The understanding of the oral cavity as a source of infection at distance has been discussed for decades. In this context, many studies consider periodontal disease as a potential risk factor associated with systemic diseases such as premature delivery and low birth weight infants, lung disease, diabetes, atherosclerosis and cardiovascular disorders. Furthermore, a relationship between periodontal disease and cancer shows that young individuals with periodontal lesions have higher risk of premature death of fatal diseases such as malignant neoplasms and cardiovascular disease. In turn, other studies suggest an association of periodontitis with breast, prostate, pancreas, lung, cancers of the digestive tract as a whole, colorectal cancer, bladder, prostate and cervix. **OBJECTIVES:** To evaluate the periodontal clinical condition and microbiological of the subgingival biofilm in women with breast cancer assisted at the Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) in the Espírito Santo. **METHODS:** Cross-sectional study with the participation of 44 volunteer women with breast cancer suffering from periodontal disease. Clinical periodontal parameters and 144 samples of subgingival biofilm were extracted and analyzed through hybridization technique Checkerboard DNA-DNA. Statistical analysis was characterized by the observed frequency, percentage, mean, median and standard deviation, and test statistics adopting the significance level of 5%. **RESULTS:** Periodontal pockets 4,0mm to 5,0mm showed 59% rate; the clinical attachment level of  $\geq 6,0$ mm reached 71.8%; bleeding on probing reached an average of 27.6%; and the average visible plaque index was 45.7%. The *Tannerella forsythia* (62.7%) showed significance for moderate pockets ( $p < 0.01$ ) and clinical attachment level ( $p = 0.440$ ), while the *Parvimonas micra* (62.8%) had significance for deep pockets ( $p < 0.01$ ) and clinical attachment level ( $p < 0.001$ ). Bacteria of the yellow complex, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus intermedius* and *Streptococcus gordonii* showed significance for deep pockets and clinical attachment level  $\geq 6,0$ mm. **CONCLUSION:** Some studies have been showed correlation between load bacterial and development and progression of cancer, although the oral biofilm control should be reduced at the oral cavity to avoid the carcinogenesis process. The role of periodontopathogens in the etiopathogenesis of cancer lesions is not clear in the

literature, therefore more clinical studies are needed to be realized to determine the causal factor in the association of periodontal disease and breast cancer.

**Key-words:** Periodontal disease. Breast cancer. Oral microbiome. Subgingival biofilm.

## LISTA DE ABREVIATURAS

CCS	Centro de Ciências da Saúde
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EUA	do inglês Estados Unidos da América
HUCAM	Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes
IC	Intervalo de Confiança
IOUFES	Instituto de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo
IPV	Índice de Placa Visível
ISG	Índice de Sangramento Gengival Marginal
n	Tamanho da amostra
NCI	Nível Clínico de Inserção
PBS	Profundidade de Bolsa à Sondagem
SS	Sangramento à Sondagem
SUP	Supuração
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TR	Taxa de Risco
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
USA	do inglês United States of America
VRB	Vivian Rodrigues Bernhard

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS SEIS COMPLEXOS MICROBIANOS ENCONTRADOS EM PLACAS SUBGENGIVAS (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002).....</b>	<b>23</b>
---	-----------

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - CONTAGENS DE CÉLULAS BACTERIANAS (DNA) ENCONTRADAS NAS BOLSAS PERIODONTAIS DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTÔNIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....	46
--	----

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - CARACTERIZAÇÃO SÓCIO-DEMOGRÁFICA, CLÍNICA E COMPORTAMENTAL DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....43**
- TABELA 2 - CARACTERIZAÇÃO DA PROFUNDIDADE DE BOLSA À SONDAGEM E O NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....44**
- TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO DO CPOD, SANGRAMENTO À SONDAGEM E O ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....44**
- TABELA 4 - CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL MICROBIANO ATRAVÉS DA CONTAGEM DE CÉLULAS BACTERIANAS (DNA) ENCONTRADAS NAS BOLSAS PERIODONTAIS DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....47**
- TABELA 5 - CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS MICROBIANOS VERMELHO, LARANJA E AMARELO NO BIOFILME SUBGENGIVAL DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....49**
- TABELA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPLEXOS MICROBIANOS, PROFUNDIDADE DE BOLSA E NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....50**
- TABELA 7 - CORRELAÇÃO ENTRE OS COMPLEXOS MICROBIANOS E O SANGRAMENTO À SONDAGEM DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO .....52**

## **LISTA DE APÊNDICES**

**APÊNDICE 1 - EXAME CLÍNICO PERIODONTAL (PERIODONTOGRAMA).....76**

**APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO ANAMNÉSICO MÉDICO-ODONTOLÓGICO....77**

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>ANEXO A - CARTA DE ACEITE DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES – HUCAM.....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....</b>	<b>80</b>
<b>ANEXO C - APROVAÇÃO PELO CEP/CCS-UFES/PLATAFORMA BRASIL .....</b>	<b>82</b>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	34
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
4.1	AMOSTRA.....	35
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	35
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	36
4.4	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	36
4.5	QUESTIONÁRIO ANAMNÉSICO MÉDICO-ODONTOLÓGICO .....	36
4.6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	37
4.7	AVALIAÇÃO CLÍNICA PERIODONTAL.....	37
4.8	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	38
<b>4.8.1</b>	<b>Coleta das amostras do biofilme dental subgengival .....</b>	<b>38</b>
<b>4.8.2</b>	<b>Hibridização Checkerboard DNA-DNA.....</b>	<b>38</b>
<b>4.8.3</b>	<b>Hibridização das membranas com as sondas de DNA .....</b>	<b>39</b>
<b>4.8.4</b>	<b>Detecção das espécies .....</b>	<b>40</b>
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	41
<b>4.9.1</b>	<b>Metodologia .....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>68</b>

# 1 INTRODUÇÃO

O termo doença periodontal abrange todas as doenças do periodonto, envolvendo tanto as doenças que atingem o periodonto de proteção, classicamente, denominadas doenças gengivais ou gengivites, como as doenças do periodonto de sustentação ou suporte, as periodontites (CARRANZA JR., 2007). Periodontite crônica e periodontite agressiva são formas inflamatórias da doença periodontal, causada por microrganismos do biofilme subgengival que se forma ao redor dos dentes. A inflamação crônica do periodonto resulta em liberação contínua de citocinas, prostaglandinas, toxinas bacterianas, e muitas outras enzimas destrutivas de células na área conduzindo à formação de bolsas periodontais e destruição progressiva do tecido conjuntivo (MIGLIORATI, 2008).

O biofilme dental é o fator etiológico mais importante no surgimento das doenças periodontais. Na saúde periodontal, o biofilme, na posição supragengival, é constituído predominantemente de microrganismos anaeróbios facultativos, geralmente cocos e bacilos gram-positivos, fortemente aderidos ao dente e que em parte dependem dos nutrientes da dieta do hospedeiro para a sua constituição. Entretanto, quando esse equilíbrio é rompido, em geral, por um processo metabólico gerado por um estado de anaerobiose, pode se instalar a gengivite, com predominância de bactérias anaeróbias e de gram-negativos, sendo as espécies mais representativas: *Actinomyces naeslundii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula*, *Streptococcus sanguis*, *Capnocytophaga ochracea*, *Porphyromonas gingivalis*, *Selenomonas sputigena*, *Prevotella denticola*, *Tannerella forsythia*. Por sua vez, o hospedeiro responde à agressão bacteriana na tentativa de combater e eliminar os microrganismos por meio das células de defesa - linfócitos, plasmócitos, neutrófilos e monócitos, o que gera a ulceração do epitélio sulcular oral, que passa a ser o epitélio da bolsa periodontal. Esse estágio de inflamação crônica e denominado periodontite crônica possui um biofilme subgengival caracterizado por bactérias anaeróbias estritas e gram-negativas constituído por *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Parvimonas micra*,

*Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, e, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (OPPERMAN; ROSING, 2001).

As bactérias são a principal causa de doenças infecciosas, evidências apontam que estes microrganismos são indiretamente responsáveis por inúmeras doenças (VILLAFUERTE, 2014). A doença periodontal tem sido considerada como um fator de risco em potencial para o desenvolvimento de parto prematuro e baixo peso ao nascimento (FITZPATRICK; KATZ, 2010; SIMÕES, 2011; ROSA et al., 2012), doença pulmonar (FITZPATRICK; KATZ, 2010), diabetes (GENCO, 1996; FITZPATRICK; KATZ, 2010), artrite reumatóide (ROUTSIAS et al. 2011), acidente vascular cerebral (GHIZONI, 2007), aterosclerose (PADILLA et al. 2006; VIEIRA, 2008; SARAIVA, 2010), relatos de eventos cerebrovasculares em humanos (PADILLA et al. 2006), e demais eventos coronários agudos como o infarto do miocárdio (OLIVEIRA et al., 2008; SOUZA; ANDRADE; OLIVEIRA, 2012).

Com relação à doença periodontal e associação com câncer, resultados de um estudo epidemiológico mostram que indivíduos jovens com doença periodontal e com molares perdidos possuem maior risco para morte prematura causada por doenças fatais, tais como, neoplasias malignas, doenças cardiovasculares, e doenças do sistema digestivo (HUJOEL et al., 2003; SÖDER et al., 2011). Há sugestões de associação da periodontite com câncer de próstata, mama, pâncreas e câncer de pulmão (ARORA et al., 2010; MICHAUD et al., 2007; TANWIR; SADIA; SHAUKAT, 2012), e, existem associações significativas entre doença periodontal e câncer do trato digestivo, câncer coloretal e de pâncreas. A doença periodontal também se associou significativamente com um risco aumentado para câncer de próstata em homens e câncer de útero em mulheres. A doença periodontal também mostrou uma tendência à associação com câncer de bexiga e câncer de mama em mulheres (ARORA et al., 2010). Recentemente, foi encontrada uma associação de doença periodontal com câncer de cabeça e pescoço em indivíduos que nunca fumaram ou consumiram álcool (MANTOVANI et al., 2008).

A possibilidade de estudar os efeitos sistêmicos da doença periodontal e da microbiota oral como um possível marcador de susceptibilidade ao câncer pode esclarecer uma possível correlação entre essas patologias e remeter a uma

investigação mais aprofundada sobre o papel da doença periodontal e câncer. Portanto, esta investigação pioneira implica em conhecermos o perfil clínico periodontal e microbiológico das bolsas periodontais relacionados em mulheres com câncer de mama assistidas no Ambulatório de Mastologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes (HUCAM) no Espírito Santo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A placa dentária, biofilme bacteriano formado nas superfícies dentais, desempenha um papel importante na etiologia de doenças orais como a cárie e doença periodontal (SÖDER et al. 2012). A doença periodontal envolve tanto as doenças que atingem o periodonto de proteção, classicamente, denominadas gengivites, como as doenças do periodonto de sustentação, as periodontites (CARRANZA JR., 2007; LINDHE, 2008). A doença periodontal é considerada uma das doenças crônicas inflamatórias mais comuns do mundo. Evidências indicam que 35% a 60% da população mundial sofrem de periodontite moderada. Entretanto, cerca de 10% a 30% podem ter doença periodontal grave (OLIVEIRA et al., 2008, SOUZA; ANDRADE; OLIVEIRA, 2012). De acordo com descobertas recentes do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), metade dos americanos com 30 anos ou mais têm periodontite, a forma mais avançada de doença periodontal. Isto equivale a aproximadamente 64,7 milhões de americanos (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2015). Uma revisão da literatura dos levantamentos epidemiológicos dos anos de 1993 à 2003 no Brasil, apontaram a placa dental como único agente etiológico das doenças gengivais e periodontais. Através desse levantamento concluiu-se que a prevalência geral de doença periodontal encontrada foi de 92,92%. Esta revisão também revelou uma carência de dados sobre a epidemiologia das doenças periodontais em todas as regiões geográficas brasileiras (CHAMBRONE; LIMA; CHAMBRONE, 2008).

Periodontite crônica e periodontite agressiva são formas inflamatórias da doença periodontal causadas por microrganismos do biofilme subgengival. A inflamação crônica do periodonto resulta em uma liberação contínua de citocinas, prostaglandinas, toxinas bacterianas, e muitas outras enzimas destrutivas de células (MIGLIORATI, 2008; OLIVEIRA et al., 2008). As reações inflamatória e imunológica ao biofilme bacteriano é uma característica predominante da doença periodontal. A inflamação periodontal pode acontecer concomitantemente com a ativação sistêmica da patogênese inflamatória (OLIVEIRA et al., 2008; SÖDER et al. 2012).

A relação entre periodontopatógenos e doenças sistêmicas tem sido avaliada. O entendimento da cavidade oral como uma fonte de infecção focal à distância tem sido discutido por pelo menos um século (KUMAR, 2013). Atualmente, muitos estudos consideram a doença periodontal como um fator de risco em potencial para o desenvolvimento de parto prematuro e baixo peso ao nascimento (FITZPATRICK; KATZ, 2010; SIMÕES, 2011; ROSA et al., 2012), doença pulmonar (FITZPATRICK; KATZ, 2010), diabetes (GENCO, 1996; FITZPATRICK; KATZ, 2010), artrite reumatóide (ROUTSIAS et al., 2011), acidente vascular cerebral (GHIZONI, 2007), aterosclerose (PADILLA et al., 2006; VIEIRA, 2008; SARAIVA, 2010), relatos de eventos cerebrovasculares em humanos (PADILLA et al., 2006), e demais eventos coronários agudos como o infarto do miocárdio (OLIVEIRA et al., 2008; SOUZA; ANDRADE; OLIVEIRA, 2012).

As bactérias são a principal causa de doenças infecciosas. Inúmeros microrganismos colonizam o ambiente periodontal, porém não é somente a quantidade deles que determina as modificações que ocorrem na passagem da saúde para a periodontite, mas a atividade sinérgica que ocorre com a combinação das atividades metabólicas das espécies implantadas. As doenças periodontais destrutivas são causadas por algumas espécies microbianas diferentes e podem ocorrer em vários sítios e em intervalos irregulares. Muitos progressos têm sido feitos nos estudos sobre etiologia das doenças periodontais. Um fato a ser considerado refere-se à diversidade microbiana existente no biofilme subgengival. As doenças periodontais estão associadas com alterações na densidade e na composição dessa biomassa. Mais de 500 espécies bacterianas já foram identificadas usando técnicas de cultivo e de biologia molecular. A maioria parece ser comensal e apenas um pequeno número compreende patógenos oportunistas. No entanto, os métodos de cultivo geralmente subavaliam o número de espécies (algumas não são cultiváveis) e muitos grupamentos bacterianos estão sendo descobertos por técnicas moleculares, mas o papel dos microrganismos detectados recentemente ainda é incerto. É possível que muitos deles sejam transitórios, outros comensais, mas ainda é provável que uma pequena parcela tenha relação com o desenvolvimento de doenças na cavidade bucal (TREVIZANI FILHO; SANI NETO, 2002).

Atualmente, a etiologia da doença periodontal está baseada na hipótese dos Complexos Microbianos de Socransky. Neste sentido, foram descritos seis complexos microbianos que se instalam seqüencialmente na placa subgingival de indivíduos adultos (Figura 01) (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002).

**FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS SEIS COMPLEXOS MICROBIANOS ENCONTRADOS EM PLACAS SUBGENGIVAIIS (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002)**



Os complexos microbianos, amarelo, azul, verde e violeta são constituídos por grupamentos (*clusters*) de bactérias que têm a capacidade de aderir à superfície

dental, constituindo a base da pirâmide do biofilme: são os colonizadores iniciais da superfície dental e não se relacionam com a doença, sendo muitos deles considerados até como espécies benéficas. As espécies de *Streptococcus* constituem 47% a 82% dos colonizadores pioneiros. No complexo amarelo são encontradas as bactérias *Streptococcus mitis*, *S. oralis*, *S. sanguinis*, *S. gordonii* e *S. intermedius*. No azul estão várias espécies de *Actinomyces*. O violeta engloba as bactérias *Veillonella parvula* e *Actinomyces odontolyticus*. O complexo verde compreende as espécies *Capnocytophaga ochraceae*, *C. sputigena*, *C. gingivalis* e o sorotipo “a” de *A. actinomycetemcomitans* (este sorotipo é associado, nos EUA, com a periodontite do adulto, enquanto o sorotipo “b” é relacionado com a periodontite agressiva). Esses complexos basais fornecem receptores e criam condições ecológicas para a implantação das bactérias do complexo laranja (*S. constellatus*, *Campylobacter rectus*, *C. showae*, *C. gracilis*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum* (sp. nucleatum), *F. nucleatum* (sp. vincentii), *F. nucleatum* (sp. polymorphum), *F. periodonticum*, *Eubacterium nodatum*), implicadas com a patogênese das doenças periodontais. O complexo laranja precede e cria condições para a implantação do complexo vermelho (ápice da pirâmide); este último aglomerado é formado pelas espécies *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*, aceitas como agentes etiológicos da periodontite crônica e relacionados com o aumento de profundidade de bolsa e com a presença de sangramento à sondagem (TREVIZANI FILHO; SANI NETO, 2002).

Além da etiologia bacteriana, outros fatores estão relacionados com o desenvolvimento e progressão da doença periodontal. Fatores de risco têm sido associados ao aumento da susceptibilidade à infecção periodontal, como fatores genéticos, gênero, tabagismo, etilismo, diabetes, osteoporose, deficiência de cálcio e vitamina D, estresse e obesidade. Esses fatores contribuem com a patogênese das doenças periodontais por promoverem alterações do fluxo sanguíneo no periodonto, na produção de saliva ou mesmo interferindo na resposta imune frente aos microrganismos (GENCO, 1996; GENCO; BORGNAKKE, 2013; NISHIYAMA, 2013)

O aumento no número de bactérias e estabelecimento de possíveis interações entre as espécies envolvidas na patogênese das doenças periodontais gera consequente aumento da virulência desses microrganismos (GENCO; BORGNACKE, 2013; NISHIYAMA, 2013). Entre os periodontopatógenos, incluem-se microrganismos específicos, com potenciais fatores de virulência associados à aderência, presença de cápsula, produção de proteases, inibição dos mecanismos de defesa do hospedeiro, destruição dos tecidos gengivais e reabsorção óssea alveolar, além disso, formam complexos polimicrobianos mais resistentes à ação de drogas e à resposta imunológica (ARMITAGE; ROBERTSON 2009; PASTER et al. 2001; NISHIYAMA, 2013). A saúde dos tecidos periodontais depende do equilíbrio entre a virulência dos microrganismos do biofilme subgengival e dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Quando ocorrer desequilíbrio, a doença pode se instalar.

*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Dialister pneumosintes*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga sputigena* são as bactérias que mais se destacam na patogênese das doenças periodontais (AMAR; LEEMAN, 2013; NISHIYAMA, 2013).

Em modelos de estudos com seres humanos ou animais, as bactérias orais podem se disseminar a partir do tecido gengival para a circulação sanguínea ou sistema linfático (MICHAUD 2013). Existe evidência para os microrganismos *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. denticola* em placas ateromatosas de seres humanos com aterosclerose (PUSSINEN et al., 2004) e *P. gingivalis* também tem sido associada com elevado risco de doença cardíaca coronária (PUSSINEN et al., 2003). Além desses microrganismos, o *P. gingivalis* pode sobreviver no sangue e tecido hospedeiro sendo encontrado no coração, fígado, rim e baço (MICHAUD 2013).

*P. gingivalis* é um cocobacilo, assacarolítico, gram-negativo, que requer condição de anaerobiose para seu crescimento. Apresenta morfologia colonial característica em ágar sangue, com colônias inicialmente variando entre branco ou creme e que escurecem após 4 a 8 dias de incubação devido à deposição de

hemina sobre a superfície celular bacteriana (SMALLEY et al. 2006; TEIXEIRA, 2013; COSTALONGA; HERZBERG, 2014). A hemina é utilizada em estudo *in vitro* como fonte de aquisição de ferro por *P. gingivalis*, sendo o ferro elemento crucial para o crescimento e determinação de virulência desta bactéria (KUBONIWA et al. 2001; TEIXEIRA, 2013). *P. gingivalis* adquire sua energia metabólica através de fermentação de aminoácidos, uma propriedade decisiva para a sua sobrevivência em bolsas periodontais, onde os açúcares são extremamente escassos (BOSTANCI; BELIBASAKIS, 2012; TEIXEIRA, 2013). Este patógeno oportunista pode invadir células não fagocíticas e se multiplicar no citoplasma, e sua sobrevivência no interior da célula poderia estar associada à manutenção da cronicidade da lesão periodontal (LAMONT et al., 1995; PARK et al., 2004; MAO et al., 2007; TEIXEIRA, 2013). Estudos *in vitro* mostraram que *P. gingivalis* pode induzir a apoptose de fibroblastos, linfócitos, células endoteliais e epiteliais da gengiva (ROTH et al., 2007; TEIXEIRA, 2013). *P. gingivalis* apresenta um grande número de fatores de virulência que incluem o lipopolissacarídeo, polissacarídeo capsular, fímbrias, hemaglutinina, e enzimas proteolíticas extracelulares, propiciando a adesão aos tecidos orais, formação de biofilme, indução do quadro inflamatório, obtenção de nutrientes e evasão das defesas do hospedeiro (YOSHIMURA et al., 2009).

Alguns microrganismos foram relacionados à carcinogênese (SAYEHMIRI et al., 2015). A carcinogênese é um processo multifatorial, na qual tem o crescimento desordenado de células que se acumulam no seu material genético dando origem a alterações de funções. Estas cascatas metabólicas também podem ser desencadeadas por uma infecção ou inflamação que, de fato, estima-se desempenhar um papel em 15% a 20% de todas as malignidades (SÖDER et al., 2012).

Quanto à associação com o câncer, indivíduos com doença periodontal possuem maior incidência de câncer e maior risco de morte (HUJOEL et al., 2003; TANWIR; SADIA; SHAUKAT, 2012). Doença periodontal teve uma maior incidência de câncer total em comparação com aqueles sem doença periodontal (taxa de risco/TR= 1,48; 95% intervalo de confiança/IC 1,30;1,69) (ARORA et al., 2010).

Em um estudo descritivo com 15,333 gêmeos realizado na Suécia avaliou fatores genéticos relacionados à doença periodontal e câncer em geral. A metodologia incluiu a aplicação de questionário e a mobilidade dentária relatada pelo paciente como indicador de doença periodontal. Foi sugerida a associação da periodontite com câncer do trato digestivo, coloretal (TR= 1,62; 95% IC 1,13; 2,33), pâncreas, estômago (TR= 0,85; 95% IC 0,45, 1,59), bexiga (TR= 1,13; 95% IC 0,59; 2,20), próstata, mama, colo de útero e pulmão. Há associações significativas entre doença periodontal e câncer do trato digestivo (TR= 1,34, 95% IC 1,05; 1,72) como um todo, bem como com câncer coloretal (TR= 1,62; 95% IC 1,13, 2,33) e de pâncreas (TR=2,06; 95% IC 1,14; 3,75). A doença periodontal também se associou significativamente com um risco aumentado para câncer de próstata (TR=1,47; 95% IC 1,04; 2,07) em homens e com o câncer de útero (TR= 2,20, 95% IC 1,16; 4,18) em mulheres. A doença periodontal foi associada com um risco aumentado para câncer de bexiga (TR= 1,13; 95% IC 0,59; 2,20) e câncer de mama (TR= 1,12, 95% IC 0,75; 1,68) em mulheres. De acordo com os autores é possível que a doença periodontal compartilhe fatores genéticos com alguns tipos de câncer. Entretanto, a falta de associação entre doença periodontal e câncer em gêmeos monozigóticos deve-se ao limitado poder estatístico de teste de associação nesse subgrupo. Estudos prospectivos que possam confirmar a relação genética entre doença periodontal e câncer são necessários, dessa forma será possível a identificação de polimorfismos genéticos específicos em ambas condições para a identificação de indivíduos de risco e desenvolvimento de estratégias preventivas (ARORA et al., 2010).

Outro estudo prospectivo longitudinal realizado nos Estados Unidos acompanhou 11.328 indivíduos com avaliação médica e odontológica. Houve associações significativas entre doença periodontal e câncer de pulmão e brônquios (TR= 1,94; 95% IC 1,16; 3,26), e outras associações importantes como o câncer de próstata (TR= 1,81; 95% IC 0,76; 4,34), mama feminino (TR= 1,32; 95% IC 0,74; 2,38), colo do útero (TR= 0,91; 95% IC 0,49; 1,70), pâncreas (TR= 1,77; 95% IC 0,85; 3,67), e estômago (TR= 0,95; 95% IC 0,39; 2,35) (HUJOEL et al., 2003).

Alguns patógenos periodontais têm sido relacionados com o desenvolvimento de câncer. A bactéria *P. gingivalis* pode ativar algumas reações imunológicas e

inflamatórias no hospedeiro, criando algumas perturbações na eliminação de bactérias, tendo sido descrita como potencialmente cancerígena. *P. gingivalis* tem a capacidade de invadir e penetrar diferentes células epiteliais e possui um mecanismo complexo que permite a bactéria alterar a defesa celular, em particular, alguns genes específicos do hospedeiro. Um efeito carcinogênico importante da *P. gingivalis* é a inibição de apoptose das células epiteliais que é um mecanismo de proteção intrínseca das células cancerosas. Este processo pode ser criado através do prolongamento da sobrevivência de células e aumento da proliferação celular. Esta bactéria tem a capacidade de invadir, proliferar e sobreviver no interior do citoplasma das células infectadas e, desse modo, se espalhar para células contíguas (SAYEHMIRI et al., 2015).

Estudos mostraram que *P. gingivalis* pode desempenhar um papel na carcinogênese do pâncreas (FARRELL et al., 2012; MICHAUD et al., 2007; MICHAUD et al., 2013; WHITMORE; LAMONT, 2014; VILLAFUERTE, 2014). Foram aferidos os anticorpos presentes no plasma para 25 bactérias orais em amostras de sangue em 405 pacientes com pré-diagnóstico de câncer pancreático e 416 controles pareados. O estudo demonstrou altas correlações de duas cepas de *P. gingivalis* (ATCC 53978 e ATCC 33277). Indivíduos com altos níveis de anticorpos contra *P. gingivalis* ATCC 53978 tinham um risco duas vezes maior de câncer pancreático do que os indivíduos com níveis mais baixos de anticorpos anti *P. gingivalis* (MICHAUD et al., 2013).

*P. gingivalis* foi encontrado em abundância no epitélio oral sugerindo uma possível associação com carcinoma de células escamosas de boca (HOOPER et al. 2006; KATZ et al. 2011). Uma análise de amostras de tecidos orais a partir de 10 casos e cinco indivíduos saudáveis, utilizando anticorpos imunohistoquímico específico anti *P. gingivalis* (ATCC33277) foi detectado um aumento estatisticamente significativo da coloração *P. gingivalis* em tecidos de carcinoma de células escamosas de boca do que os tecidos normais. O estudo usou coloração de anticorpos contra a bactéria comensal *Streptococcus gordonii* como um controle, que não mostraram qualquer diferença significativa de distribuição. Esta constatação apontou pela primeira vez uma associação notável de *P. gingivalis* com carcinoma

de células escamosas de boca, apesar do tamanho reduzido da amostra (KATZ et al., 2011).

*P. gingivalis* é um biomarcador para o risco associado de morte por câncer orodigestivo (AHN; SEGERS; HAYES, 2012). Em estudo prospectivo com 12.605 indivíduos com diagnóstico de periodontite, dos quais 7.852 tiveram resposta imune do anticorpo IgG para *P. gingivalis*. Foi realizado um acompanhamento desses indivíduos de 1988 a 2006 em relação à mortalidade por câncer orodigestivo, incluindo câncer de lábio, cavidade oral, trato gastrointestinal, pâncreas e fígado. Nesse período de acompanhamento ocorreram 105 mortes por câncer orodigestivo. Foi encontrada associação da periodontite moderada ou grave com o aumento do risco relativo de morte por câncer orodigestivo. O risco de mortalidade também foi proporcionalmente aumentado com a gravidade da doença periodontal. A maior associação com periodontite foi encontrada para câncer colorretal e câncer de pâncreas. Os níveis elevados de soro IgG de *P. gingivalis* tendeu a ser associado com o aumento da mortalidade por câncer orodigestivo. *P. gingivalis* também foi associado com maior probabilidade para a mortalidade por câncer orodigestivo em indivíduos não apresentem diagnóstico de doença periodontal. Desta forma, este estudo foi o primeiro correlacionar *P. gingivalis* com a mortalidade por câncer orodigestivo, apontando assim, que *P. gingivalis* pode ser um biomarcador valioso para risco associado a morte por câncer orodigestivo (AHN; SEGERS; HAYES, 2012).

Foi relatado um aumento da proporção de *P. gingivalis* em amostras de saliva de 45 indivíduos com câncer de células escamosas de boca em comparação com 229 indivíduos saudáveis. Embora este aumento não tenha sido estatisticamente significativo, pode ser que o tamanho relativamente pequeno de pacientes tenha sido um fator limitador. No mesmo estudo, foram avaliadas 40 bactérias orais comuns usando método de hibridização de DNA-DNA. Três espécies testadas, *Capnocytophaga gingivalis*, *Prevotella melaninogenica* e *Streptococcus mitis*, apresentaram contagens médias elevadas na saliva de indivíduos com câncer de células escamosas de boca. Quando testado como marcadores de diagnóstico, as três espécies foram encontrados para 80% dos casos de câncer. Em saliva, a presença de contagens altas de *C. gingivalis*, *P. melaninogenica* e *S. mitis* em saliva

podem ser indicadores de diagnóstico de câncer de células escamosas de boca (MAGER et al., 2005).

Outra bactéria, a *Fusobacterium nucleatum*, tem sido associada como espécie predominante no câncer coloretal (CASTELLARIN et al., 2012; HAN, 2014; WHITMORE; LAMONT, 2014; VILLAFUERTE, 2014). Respostas de células epiteliais à infecção por *F. nucleatum* também são consistentes com a carcinogênese (WHITMORE; LAMONT, 2014). Amostras de tecidos tumorais de câncer coloretal de 99 indivíduos foram comparadas com 99 amostras de tecidos normais adjacentes. Através de análise quantitativa por PCR foi observada uma abundância global significativa de *Fusobacterium* sendo 415 vezes maior nas amostras de tumor, do que nas amostras normais emparelhadas. Deste modo, existe evidência de que a infecção por *Fusobacterium* seja comum no câncer coloretal, mas ainda não se sabe se existe qualquer envolvimento do *Fusobacterium* na tumorigênese. A presença dessa bactéria pode simplesmente representar uma infecção oportunista em um local imuno-comprometido, mas a possibilidade de um papel na etiologia de tumores, talvez por meio de mecanismos pró-inflamatórios, merece um exame mais minucioso. No mesmo estudo, três amostras dos 99 indivíduos com câncer coloretal foram compostas por espécies de adenocarcinoma. Duas destas três amostras tinham índice muito elevado de *Fusobacterium*, e, uma delas mostrou ser a taxa mais elevada de todas as amostras tumorais. Isso apóia a noção de que um estudo abrangente de lesões em fase inicial pode ajudar a determinar se a infecção por *Fusobacterium* está relacionada com os primeiros estágios da progressão do câncer (CASTELLARIN et al., 2012). Moléculas de sinalização alvo por *F. nucleatum* incluem quinases envolvidas no controle do ciclo celular, e, como resultado, *F. nucleatum* pode elevar a proliferação e migração celular, além de ativar p38, levando à secreção de MMP-9 e MMP-13 (colagenase 3). Semelhante a MMP-9, MMP-13 desempenha um importante papel na invasão de tumores e metástases. Recentemente, foi demonstrada uma relação mais direta entre *F. nucleatum* e câncer coloretal em que a adesina fusobacterial FadA liga a E-caderina em células de câncer de cólon e ativa a sinalização de  $\beta$ -catenina. Esta via conduz a um aumento da atividade de transcrição de oncogênese, Wnt e citocinas, assim como a estimulação da proliferação de células de câncer coloretal. *In vivo* foi estabelecido pela constatação de que os níveis de genes FadA no tecido do cólon de pacientes

com câncer colorretal foram 10 vezes maior em comparação com indivíduos normais (WHITMORE; LAMONT, 2014).

Investigar a prevalência de agentes periodontais entre pacientes com câncer é importante, uma vez que suas descobertas podem ajudar os médicos para controlar complicações periodontais e terem um melhor prognóstico para planejamento do tratamento da doença de câncer (KANG et al., 2009; SAYEHMIRI et al., 2015). As informações sobre as causas de câncer em locais específicos são importantes para o controle do câncer por pesquisadores, pacientes, e o público em geral. No entanto, alguns tipos de câncer possuem poucas identificações de agentes causais (COGLIANO et al., 2011).

No mundo, em 2012, a estimativa era de 14,1 milhões de novos casos de câncer; 8,2 milhões de mortes por câncer e 32,6 milhões de pessoas vivendo com câncer (dentro de 5 anos após o diagnóstico). O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais comum no mundo e o tipo de câncer mais freqüente entre as mulheres com um número estimado de 1,67 milhões de novos casos de câncer diagnosticados em 2012 (25% de todos os cânceres) (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2015).

A estimativa de mulheres vivendo com câncer de mama nos Estados Unidos da América, em 2012, foi de 2.975,314, e a estimativa de novos casos de câncer de mama projetada para 2015 foi de 231,840 indivíduos, ou seja, 14,0% do total de casos novos de câncer. Já a estimativa de morte por câncer de mama para 2015 foi de 40.290 indivíduos representando 6,8% do total das mortes por câncer (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2012).

O câncer de mama é o mais comum entre as mulheres no Brasil, respondendo por 25% dos casos novos a cada ano. A estimativa de incidência de câncer de mama no Brasil válida para 2015 previu 57.120 casos novos (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ DE ALENCAR GOMES DA SILVA, 2015). Existem diferenças nas taxas de incidência da doença entre as regiões do Brasil. A maior incidência ocorre na região sudeste. A medida utilizada para quantificar esta incidência chama-se taxa bruta, que corresponde ao número de casos para cada

100 mil mulheres. Na região sudeste esta taxa é de 64,54 casos/100 mil mulheres, região sul 64,3 casos/100 mil mulheres, região centro-oeste 37,68 casos/100 mil mulheres, região nordeste 30,11 casos/100 mil mulheres e região norte com a menor incidência 16,62 casos/100 mil mulheres. As variações geográficas observadas dentro do Brasil, com as taxas em áreas urbanas geralmente excedendo aquelas observadas em áreas rurais, corroboram as tendências internacionais (SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOLOGIA, 2015).

Os principais fatores associados a um maior risco para desenvolver câncer de mama são: sexo feminino, menarca precoce (antes dos 11 anos), menopausa tardia (após os 55 anos), nuliparidade, primeira gestação a termo após os 30 anos, ciclos menstruais menores que 21 dias, mãe ou irmã com história de câncer de mama, na pré-menopausa, dieta rica em gordura animal, dieta pobre em fibras, obesidade (principalmente após a menopausa), radiações ionizantes, etilismo, ausência de atividade sexual, residência em área urbana e cor branca (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ DE ALENCAR GOMES DA SILVA, 2002). Apesar de faltar evidência científica, especula-se ainda que os seguintes fatores estejam associados ao câncer de mama: abortamento, aumento do volume das mamas, baixa ingestão de fitoestrogênios e uso de drogas anti-inflamatórias (THULER, 2003). Por outro lado, os principais fatores associados a um menor risco para desenvolver câncer de mama são: sexo masculino, menarca após os 14 anos, menopausa antes dos 45 anos, primeira gestação a termo e amamentação precoces (idade inferior a 30 anos), atividade física regular e hábitos alimentares saudáveis (baixo teor de gordura, sal e açúcar; aumento no teor de grãos integrais, tubérculos, vegetais e frutas) (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ DE ALENCAR GOMES DA SILVA, 2002), exposição a campos magnéticos, trauma mamário, uso de antitranspirantes e de implantes de próteses mamárias de silicone (THULER, 2003). Por fim, o conhecimento científico acumulado até o presente indica que menos de 50% dos casos de câncer de mama podem ser explicados pelos principais fatores de risco descritos. É considerada mulher com situação de alto risco aquela com história familiar de câncer de mama em ascendentes ou parentes diretos (mãe ou irmã) na pré-menopausa; ou aquela que teve diagnóstico prévio de hiperplasia atípica ou neoplasia lobular *in situ*; ou ainda câncer de mama prévio (INSTITUTO NACIONAL DO CANCER JOSÉ DE ALENCAR GOMES DA SILVA, 2002).

A avaliação periodontal e microbiológica da placa subgengival ainda não foi esclarecida em estudos científicos em pacientes com câncer de mama. Diante dessas investigações e da escassez de pesquisas sobre a condição clínica periodontal e o perfil microbiológico do biofilme subgengival das bolsas periodontais relacionados com o câncer de mama, amostras de placa subgengival dessas pacientes foram avaliadas por metodologia molecular de hibridização DNA-DNA checkerboard. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi conhecer aspectos clínicos periodontais e a natureza do biofilme subgengival de mulheres com câncer de mama assistidas no Ambulatório de Mastologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes (HUCAM) no Espírito Santo. Este estudo faz parte de um projeto com maior amplitude, no qual o desenho de caso controle está sendo realizado nessa mesma população alvo, com o objetivo de avaliar a resposta do hospedeiro após a terapia periodontal em pacientes em tratamento para o câncer de mama.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a condição clínica periodontal e microbiológica do biofilme subgengival em mulheres com câncer de mama assistidas no Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) no Espírito Santo.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Demonstrar as características sócio-demográficas, de saúde sistêmica, comportamentais e preocupação com o tratamento odontológico.
2. Analisar os parâmetros clínicos periodontais;
3. Caracterizar o perfil microbiológico das bolsas periodontais das mulheres com câncer de mama; e,
4. Comparar os parâmetros clínicos periodontais com o perfil microbiológico do biofilme subgengival;

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRA

Quarenta e quatro mulheres portadoras de câncer de mama submetidas às terapias antineoplásicas e assistidas no Ambulatório de Mastologia do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) no Espírito Santo participaram deste estudo. A amostra (*n*) deste estudo transversal foi de conveniência. Após diagnóstico confirmado de câncer de mama pelos médicos mastologistas do HUCAM, as pacientes foram encaminhadas para o Serviço de Periodontia no Ambulatório 2 do Instituto de Odontologia da UFES (IOUFES). A seleção das pacientes foi realizada por um especialista em Periodontia (VRB) as quais foram submetidas ao exame clínico periodontal completo, número de dentes perdidos (APÊNDICE 1) e questionário anamnésico médico-odontológico (APÊNDICE 2). A presença de doença periodontal nas mulheres portadoras de câncer de mama foi confirmada após diagnóstico da presença de pelo menos uma (01) bolsa periodontal com profundidade de sondagem e nível de inserção clínico  $\geq 4,0$ mm em qualquer maxilar.

### 4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

As participantes voluntárias deveriam ter as seguintes características clínicas: periodontite crônica em pelo menos um (01) sítio com profundidade de bolsa à sondagem (PBS) e nível clínico de inserção (NCI) maior ou igual a 4,0mm em qualquer maxilar; presença de no mínimo dez (10) dentes na cavidade bucal; idades entre 35 até 75 anos de idade; diagnóstico confirmado de câncer de mama assistido pela equipe médica do Serviço de Mastologia do HUCAM/UFES.

#### 4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão adotados foram: idades abaixo de 30 anos e acima de 75 anos; portadoras somente de gengivite; não possuir o mínimo de dez dentes na cavidade bucal; ter realizado cirurgia; portadores de desordens locais ou sistêmicas que causam lesões nas mucosas orais; estar usando terapia com antimicrobiano ou antibiótico dentro de duas semanas a quatro semanas prévias ao exame bucal; presença de infecção aguda oral pré-existente; gestantes; reabilitações protéticas extensas, tais como: prótese total superior e inferior; prótese parcial removível superior ou inferior apoiada em menos de dez dentes naturais na cavidade bucal; histórico de tratamento periodontal prévio nos últimos seis meses; e, alergia à clorexidina.

#### 4.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todas as participantes foram informadas dos objetivos do estudo e de seus riscos e benefícios. Após autorização do Comitê de Ética do Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes (HUCAM) (ANEXO A), as pacientes que concordaram em participar voluntariamente do estudo foram encaminhadas e após concordarem e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO B), de acordo com as diretrizes e normas do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº466/12) foram incluídas no estudo. Todas pacientes foram submetidas à profilaxia, orientação de higiene oral e aplicação tópica de flúor no Serviço de Periodontia (Ambulatório 2) do IOUFES. O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS da UFES/Plataforma Brasil e aprovado com o número CAAE 21597313.2.0000.5060 (ANEXO C).

#### 4.5 QUESTIONÁRIOS ANAMNÉSICO E MÉDICO-ODONTOLÓGICO

As informações demográficas, clínicas, comportamentais, sistêmicas e bucais relacionadas ao uso das terapias antineoplásicas para o câncer de mama foram obtidas por meio de um questionário anamnésico médico-odontológico estruturado

(APÊNDICE 2) contendo as variáveis independentes, idade (anos), tabagismo, etilismo, hipertensão, diabetes, depressão, ansiedade, cardiopatias, outras neoplasias, visita ao dentista e tratamento periodontal. Não foram coletados dados dos prontuários médicos do HUCAM sobre o desfecho oncológico atribuível ao câncer de mama.

#### 4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Trata-se de um estudo observacional descritivo transversal. No primeiro contato com as pacientes foi realizado o questionário anamnésico, os procedimentos clínicos de profilaxia e a coleta de amostras subgengivais de placa bacteriana em diferentes sítios, naquelas pacientes que se enquadravam nos critérios de inclusão.

#### 4.7 AVALIAÇÃO CLÍNICA PERIODONTAL

A avaliação clínica periodontal foi realizada por uma periodontista (VRB) com o objetivo de realizar o diagnóstico clínico periodontal. As mensurações clínicas periodontais foram registradas no formulário Periodontograma (APÊNDICE 1) e em seis sítios por dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual e distolingual), em todos os dentes (exceto os terceiros molares), utilizando-se sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (PCPUNC-BR 15, Hufriedy do Brasil, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A perda dentária foi registrada pela ausência de qualquer dente utilizando o próprio periodontograma. Foram analisados os seguintes parâmetros periodontais: (1) Sondagem do Nível Clínico de Inserção (NCI), aferindo-se a distância, em milímetros, entre a junção cimento-esmalte e a porção mais apical da bolsa/sulco periodontal; (2) Profundidade Clínica de Sondagem ou Profundidade de Bolsa à Sondagem (PBS), aferindo-se a distância, em milímetros, entre a margem gengival livre e a porção mais apical sondável da bolsa/sulco periodontal; (3) Índice de Placa Visível (IPV): presença (score 1) ou ausência (score 0) de placa supragengival visível (AINAMO; BAY, 1975); (4) Índice de Sangramento Gengival Marginal (ISG): presença (score 1) ou ausência (score 0) de sangramento gengival marginal, após percorrer levemente a sonda ao longo; (5)

Sangramento à Sondagem (SS): presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento após 20 segundos da sondagem; (6) Supuração (SUP): presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de supuração espontânea ou após 20 segundos da sondagem; (7) Mobilidade dentária, e (8) Lesões de Furca (HAMP et. al., 1975).

A presença de periodontite crônica foi definida se: PBS  $\geq$ 4,0mm e NCI  $\geq$ 4,0mm em algum dente e no mesmo sítio e não contíguo, classificando-se a doença em localizada (menos de 30% dos dentes envolvidos), e generalizada (mais de 30% dos dentes afetados) (ARMITAGE, 1999). O diagnóstico clínico de periodontite crônica baseou-se nas seguintes características: (1) Prevalência maior em adultos podendo ocorrer em crianças e adolescentes; (2) Taxas de progressão baixas a moderadas; (3) Quantidade de depósitos microbianos consistente com a severidade da destruição periodontal; (4) Nenhum padrão de agregação familiar, e (5) Presença frequente de cálculo subgengival (ARMITAGE, 2004).

## 4.8 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

### 4.8.1 Coleta das amostras do biofilme dental subgengival

Foram coletadas por meio de curetas periodontais Gracey (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chigago IL) 144 amostras de biofilme subgengival das bolsas periodontais mais profundas nas 44 pacientes avaliadas (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chigago IL), após profilaxia periodontal visando à remoção do biofilme supragengival e/ou do cálculo dentário. Em média foram selecionados em torno de 3 sítios periodontais por pacientes. As amostras foram transferidas para tubos de plásticos (Eppendorf) contendo 300ul de solução tampão TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7,6) e estocados a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### 4.8.2 Hibridização Checkerboard DNA-DNA

Esta fase foi realizada no Laboratório de Microbiologia Oral do Programa de Pós-graduação de Odontologia da Universidade de Guarulhos/UnG em Guarulhos-SP. A identificação dos microrganismos presentes no biofilme subgengival dos sítios

selecionados foi realizada por meio da técnica de hibridização *Checkerboard DNA-DNA* (SOCRANSKY et al., 1994). A cada tubo de Eppendorf contendo a amostra de placa subgengival foi adicionado 0,15ml de NaOH 0,5M. As suspensões foram fervidas em banho-maria por 5 min e em seguidas neutralizadas pela adição de 0,8 ml de 5M de acetato de amônia. Com isso, as células bacterianas foram lisadas e o DNA ficou suspenso na solução. Cada suspensão de placa contendo DNA livre foi depositada nas fendas do “Minislot” (Immuntics, Cambridge, MA, USA) e o DNA concentrado na membrana de nylon (15 X 15 cm) com carga positiva (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA). A membrana foi removida do aparato e o DNA depositado na membrana foi então fixado na mesma por intermédio de aquecimento em forno a 120°C por 20 minutos. As duas últimas canaletas do “Minislot” foram reservadas para a colocação dos controles, contendo uma mistura das espécies de microrganismos para serem investigados pelas sondas de DNA, em duas concentrações,  $10^5$  e  $10^6$  células bacterianas.

#### **4.8.3 Hibridização das membranas com as sondas de DNA**

Após fixação do DNA nas membranas, essas foram pré-hibridizadas a 42°C por 1 hora numa solução de 50% de formamida, 1% caseína, 5 X SSC, 25 mM de fosfato de sódio (pH 6.5) e 0,5 mg/ml de RNA de levedura. Em seguida, cada membrana foi colocada sob a placa acrílica do “Miniblotter 45” (Immuntics, Cambridge, MA, USA) com as linhas contendo o DNA fixado perpendicular às canaletas do “Miniblotter”. O “Miniblotter” contém 45 canaletas que servem cada uma para a colocação de uma sonda de DNA. As sondas de DNA foram construídas usando o “random primer digoxigenin labeling Kit” (Boehringer Mannheim), como descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). Sondas de DNA específicas para 40 espécies bacterianas, selecionadas devido à sua associação com diferentes tipos de doenças e saúde periodontais foram usadas nesse estudo (SOCRANSKY et al., 1994). Antes do seu uso, as sondas foram testadas com uma mistura controle contendo as espécies investigadas, numa concentração de  $10^4$  células bacterianas. Suas concentrações foram ajustadas de tal modo que as intensidades dos sinais de todas as sondas fossem semelhantes. Cada canaleta do “Miniblotter 45” foi preenchida com 130 µl de uma determinada sonda, contida numa solução de hibridização (45% formamida, 5 X SSC, 20 mM de fosfato de sódio (pH 6.5), 0,2

mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano, 1% caseína e 20 ng/ml de sonda de DNA). As sondas hibridizam perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano fixado, propiciando um formato de xadrez com as linhas de DNA, horizontais, e as sondas, verticais. O aparato contendo as membranas foi colocado dentro de um saco plástico para evitar a desidratação das mesmas. A hibridização das membranas com as sondas ocorreu a 42°C, durante um período mínimo de 20 horas.

#### **4.8.4 Detecção das espécies**

Após hibridização com as sondas, as membranas foram removidas do “Miniblotter” e lavadas por 5 minutos em temperatura ambiente, seguido de duas lavagens de 20 minutos, a 65°C, numa solução adstringente (0,1 X SSC, 0,1% SDS), a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, as membranas foram imersas por 1 hora numa solução contendo 0,1 M ácido maleico, 3M NaCl, 0,2 M NaOH, 0,3% Tween 20, 0,5% caseína, pH 8,0, e por 30 minutos na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Boehringer Mannheim), numa diluição de 1/25.000. As membranas foram, então, lavadas com uma solução de 0,1M ácido maleico, 3M NaCl, 0,2M NaOH, 0,3% Tween 20, pH 8,0, 2 vezes por 20 minutos, e uma vez por 5 minutos em 0,1M Tris HCl, 0,1M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9.5. Em seguida, as membranas foram incubadas em uma solução detectora, Lumi Phos 530 (Lumigen, Southfield, MI, USA), por 45 minutos a 37°C. Finalmente, as membranas foram colocadas num cassete sob um filme radiográfico (KodaK X-OMAT) por aproximadamente 40 minutos, e os filmes revelados logo em seguida. A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, da seguinte forma: cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de placa foi comparado em intensidade ao sinal produzido pela mesma sonda nos dois controles contendo 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> bactérias. Desta forma, o número 0 será registrado quando não houver detecção do sinal; 1 equivalerá a um sinal menos intenso que o controle de 10<sup>5</sup> células; 2 equivalerá a aproximadamente 10<sup>5</sup> células; 3, entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> células; 4 aproximadamente 10<sup>6</sup> células e 5, mais de 10<sup>6</sup> células. Estes registros foram então utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas no estudo, expressos em nível médio de cada espécie (contagem) em cada sítio.

## 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A amostra final deste estudo foi de 44 mulheres com câncer de mama e para a análise microbiológica foram avaliadas em torno de 3 sítios por pacientes, totalizando 144 amostras de biofilme subgengival. Os dados foram registrados em um banco de dados elaborado no Excel (versão 2007). O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% e o *software* utilizado foi a IBM SPSS *Statistics version 21*.

### 4.9.1 Metodologia

A análise estatística foi iniciada pela caracterização da amostra através da frequência observada, porcentagem, média, mediana e desvio padrão. As comparações entre as profundidades de bolsa à sondagem, níveis clínicos de inserção foram realizadas pelos testes do Qui-Quadrado de Pearson e o teste Z para proporções com o valor  $p$  ajustado pelo método de Bonferroni. O teste de Mann-Whitney foi exigido para verificar as diferenças entre as bactérias do complexo vermelho *versus* profundidade de bolsa à sondagem e nível clínico de inserção. Para avaliar as correlações entre o sangramento à sondagem *versus* complexo de bactérias se utilizou a correlação de Spearman.

## 5 RESULTADOS

A Tabela 1 a seguir apresenta a caracterização sócio-demográfica da amostra observando a frequência absoluta e porcentagem. A faixa etária entre 51 a 58 anos correspondeu a 40,9% do total da amostra. As tabagistas corresponderam a 13,6% das respondentes a pesquisa, as etilistas 9,1%, as hipertensas 34,1%, as com diabetes 4,5%, as com depressão 11,4%, as ansiosas 18,2%, as cardiopatas 9,1%, outras neoplasias não houve ocorrências (100,0%), todas visitaram o dentista (100,0%), as que fizeram tratamento de gengiva 15,9%.

**TABELA 1: CARACTERIZAÇÃO SÓCIO-DEMOGRÁFICA, CLÍNICA E COMPORTAMENTAL DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

		<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Faixa etária</b>	38 a 44 anos	10	22,7
	45 a 51 anos	12	27,3
	51 a 58 anos	18	40,9
	59 a 68 anos	4	9,1
<b>Tabagismo</b>	Não	38	86,4
	Sim	6	13,6
<b>Etilismo</b>	Não	40	90,9
	Sim	4	9,1
<b>Hipertensão</b>	Não	29	65,9
	Sim	15	34,1
<b>Diabetes</b>	Não	42	95,5
	Sim	2	4,5
<b>Depressão</b>	Não	39	88,6
	Sim	5	11,4
<b>Ansiedade</b>	Não	36	81,8
	Sim	8	18,2
<b>Cardiopatias</b>	Não	40	90,9
	Sim	4	9,1
<b>Outras neoplasias</b>	Não	44	100,0
	Sim	0	0,0
<b>Visita ao dentista</b>	Não	0	0,0
	Sim	44	100,0
<b>Tratamento de gengiva</b>	Não	37	84,1
	Sim	7	15,9

Foram observadas as frequências da variável profundidade da bolsa à sondagem e o nível clínico de inserção. O maior valor encontrado, 59% foi para bolsa moderada (4,0 à 5,0mm), enquanto que, para bolsa profunda ( $\geq 6,0\text{mm}$ ) 41%. Para o nível clínico de inserção foi observado maior valor, 71,8% para bolsa profunda ( $\geq 6,0\text{mm}$ ), enquanto que, para bolsa moderada (4,0 à 5,0mm) 28,2% (Tabela 2).

**TABELA 2: CARACTERIZAÇÃO DA PROFUNDIDADE DE BOLSA À SONDAGEM E O NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

		n	%
Profundidade da bolsa à sondagem	4 a 5,0mm	23	59,0
	Maior ou igual a 6,0mm	16	41,0
Nível clínico de inserção	4 a 5,0mm	11	28,2
	Maior ou igual a 6,0mm	28	71,8

Para o CPOD, o sangramento à sondagem e o índice de placa visível foram calculadas as medidas de tendência central e de dispersão. Os dentes cariados, perdidos e obturados foram em média de 18,2% (DP  $\pm$  8,3). O sangramento à sondagem foi em média de 27,6% (DP  $\pm$  28,1). A média de índice de placa visível foi de 45,7% (DP  $\pm$  40,7) (Tabela 3).

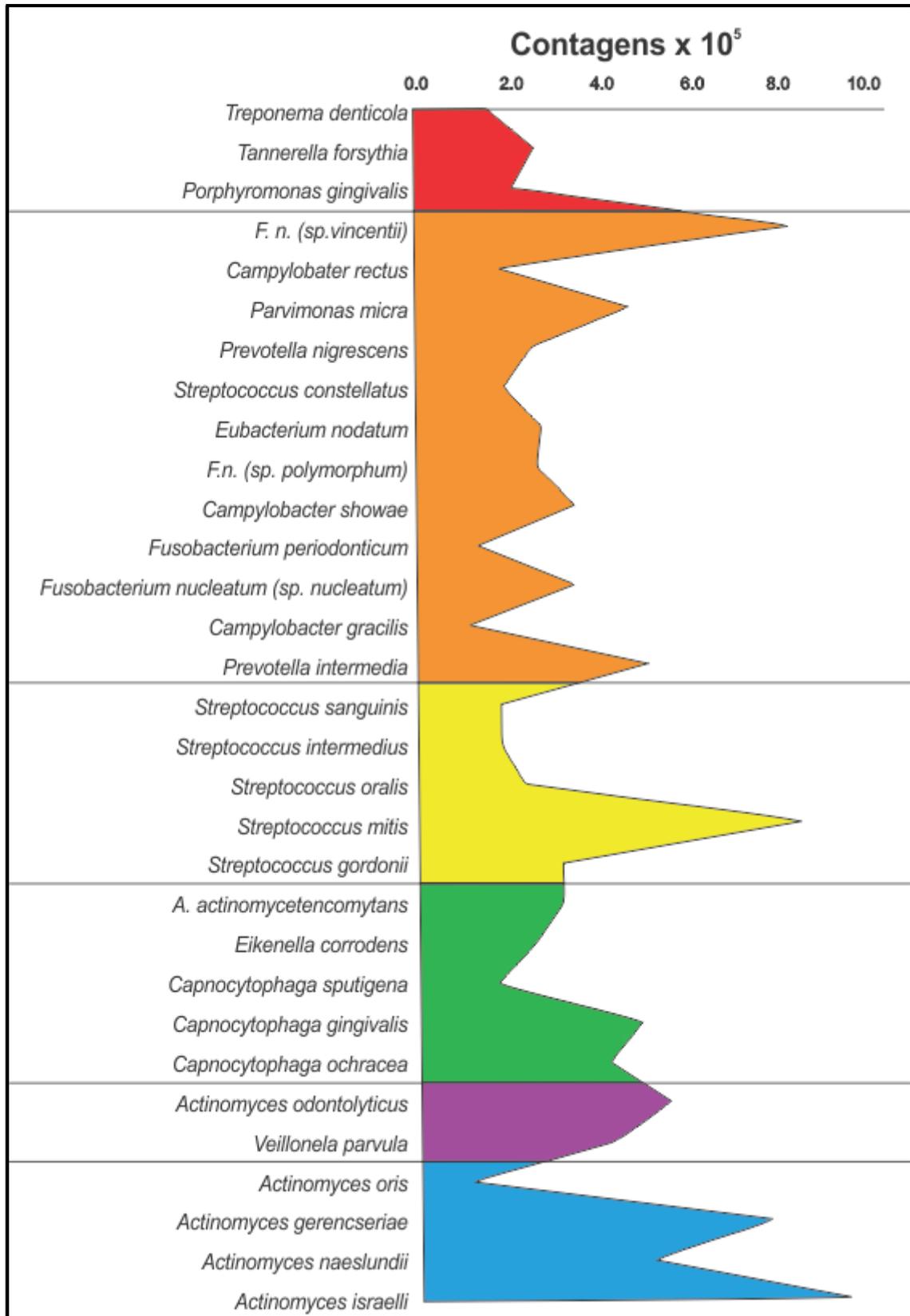
**TABELA 3: CARACTERIZAÇÃO DO CPOD, SANGRAMENTO À SONDAGEM E O ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

	Mediana	Média	Desvio padrão
<b>CPOD</b>	19,5	18,2	8,3
<b>Sangramento à sondagem</b>	22,0	27,6	28,1
<b>Índice de placa visível</b>	36,0	45,7	40,7

De acordo com a descrição dos complexos microbianos de Socransky, os perfis microbianos médios (contagens  $\times 10^5$ ) das 31 espécies de bactérias foram determinadas. No complexo vermelho, a média encontrada foi de 1,6% para *Treponema denticola*, 2,1% para *Porphyromonas gingivalis* e maior média para *Tannerella forsythia*, 2,6%. No complexo laranja foram encontradas médias de 1,1% para *Campylobacter gracilis*, 1,3% *Fusobacterium periodonticum*, 1,8% *Campylobacter rectus*, 1,9% *Streptococcus constellatus*, 2,5% *Prevotella nigrescens*, 2,6% *F. nucleatum* (sp. *polymorphum*), 2,7% *Eubacterium nodatum*, 3,4%

*Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)* e *Campylobacter showae*, 4,6% *Parvimonas micra*, 5,0% *Prevotella intermedia* e maior média de 8,1% para *F. nucleatum (sp. vincentii)*. Complexo amarelo com médias iguais para *Streptococcus sanguinis* (1,8%) e *Streptococcus intermedius* (1,8%), 2,3% para *Streptococcus oralis*, 3,1% para *Streptococcus gordonii* e maior média para *Streptococcus mitis* (8,3%). O complexo verde mostrou médias de 1,7% para *Capnocytophaga sputigena*, 2,5% *Eikenella corrodens*, 3,1% *A. actinomycetencomytans*, 4,1% *Capnocytophaga ochracea* e maior média de 4,8% para *Capnocytophaga gingivalis*. Já o complexo violeta teve médias para *Veillonella parvula* 4,2% e para *Actinomyces odontolyticus* 5,4%. Finalizando a caracterização dos complexos, o azul apresentou 1,1% para *Actinomyces oris*, 5,0% *Actinomyces naeslundii*, 7,6% *Actinomyces gerencseriae* e maior média para *Actinomyces israelii*, 9,3% (Gráfico 1 e Tabela 4).

**GRÁFICO 1: CONTAGENS DE CÉLULAS BACTERIANAS (DNA) ENCONTRADAS NAS BOLSAS PERIODONTAIS DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**



**TABELA 4: CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL MICROBIANO ATRAVÉS DA CONTAGEM DE CÉLULAS BACTERIANAS (DNA) ENCONTRADAS NAS BOLSAS PERIODONTAIS DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

		Média	Desvio Padrão
<b>Complexo vermelho</b>	<i>Treponema denticola</i>	1.6	2.7
	<i>Tannerella forsythia</i>	2.6	3.9
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2.1	3.8
<b>Complexo laranja</b>	<i>F. nucleatum (sp. vincentii)</i>	8.1	1.5
	<i>Campylobacter rectus</i>	1.8	1.8
	<i>Parvimonas micra</i>	4.6	3.9
	<i>Prevotella nigrescens</i>	2.5	3.7
	<i>Streptococcus constellatus</i>	1.9	3.0
	<i>Eubacterium nodatum</i>	2.7	3.8
	<i>F. nucleatum (sp. polymorphum)</i>	2.6	3.9
	<i>Campylobacter showae</i>	3.4	3.4
	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	1.3	2.4
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	3.4	4.1
	<i>Campylobacter gracilis</i>	1.1	2.6
<b>Complexo amarelo</b>	<i>Prevotella intermedia</i>	5.0	3.7
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1.8	3.0
	<i>Streptococcus intermedius</i>	1.8	3.0
	<i>Streptococcus oralis</i>	2.3	3.5
	<i>Streptococcus mitis</i>	8.3	1.5
<b>Complexo verde</b>	<i>Streptococcus gordonii</i>	3.1	3.1
	<i>A. actinomycetencomytans</i>	3.1	4.3
	<i>Eikenella corrodens</i>	2.5	2.8
	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	1.7	2.6
	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	4.8	3.8
<b>Complexo violeta</b>	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	4.1	4.0
	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	5.4	3.7
<b>Complexo azul</b>	<i>Veillonella parvula</i>	4.2	3.8
	<i>Actinomyces oris</i>	1.1	2.0
	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	7.6	1.5
	<i>Actinomyces naeslundii</i>	5.0	3.6
	<i>Actinomyces israelii</i>	9.3	1.5

Os complexos microbianos vermelho, laranja e amarelo são apresentados na Tabela 5. Avaliando somente o complexo microbiano vermelho percebe-se que a detecção da bactéria *Porphyromonas gingivalis* foi de 94,%, *Treponema denticola*,

98,6% e *Tannerella forsythia*, 96,5%. Já o complexo microbiano laranja se observou a detecção na bactéria *Streptococcus constellatus* em 81,9%, *Eubacterium nodatum* 94,4%, *Fusobacterium nucleatum* (sp. *vincentii*) 96,5%, *Campylobacter rectus* 93,8%, *Parvimonas micra* 96,5%, *Prevotella nigrescens* 97,9%, *Fusobacterium nucleatum* (sp. *polymorphum*) 95,1%, *Campylobacter showae* 96,5%, *Fusobacterium periodonticum* 98,6%, *Fusobacterium nucleatum* (sp. *nucleatum*) 93,1%, *Campylobacter gracilis* 77,1% e *Prevotella intermedia* 86,1%. O complexo microbiano amarelo apresentou detecção da bactéria *Streptococcus sanguinis* em 90,3%, *Streptococcus oralis* 88,9%, *Streptococcus intermedius* 78,5%, *Streptococcus gordonii* 93,1% e *Streptococcus mitis* 93,1%.

**TABELA 5: CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS MICROBIANOS VERMELHO, LARANJA E AMARELO NO BIOFILME SUBGENGIVAL DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

		n	%	
<b>Complexo vermelho</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Não detectado	8	5,6
		Detectado	136	94,4
	<i>Treponema denticola</i>	Não detectado	2	1,4
		Detectado	142	98,6
	<i>Tannerella forsythia</i>	Não detectado	5	3,5
		Detectado	139	96,5
	<i>Streptococcus constellatus</i>	Não detectado	26	18,1
		Detectado	118	81,9
	<i>Eubacterium nodatum</i>	Não detectado	10	6,9
		Detectado	136	94,4
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. vincentii)</i>	Não detectado	5	3,5	
	Detectado	139	96,5	
<i>Campylobacter rectus</i>	Não detectado	9	6,3	
	Detectado	135	93,8	
<i>Parvimonas micra</i>	Não detectado	5	3,5	
	Detectado	139	96,5	
<b>Complexo laranja</b>	<i>Prevotella nigrescens</i>	Não detectado	3	2,1
		Detectado	141	97,9
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. polymorphum)</i>	Não detectado	7	4,9
		Detectado	137	95,1
	<i>Campylobacter showae</i>	Não detectado	5	3,5
		Detectado	139	96,5
	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	Não detectado	2	1,4
		Detectado	142	98,6
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	Não detectado	10	6,9
		Detectado	134	93,1
<i>Campylobacter gracilis</i>	Não detectado	33	22,9	
	Detectado	111	77,1	
<i>Prevotella intermedia</i>	Não detectado	20	13,9	
	Detectado	124	86,1	
<b>Complexo amarelo</b>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Não detectado	14	9,7
		Detectado	130	90,3
	<i>Streptococcus oralis</i>	Não detectado	16	11,1
		Detectado	128	88,9
	<i>Streptococcus intermedius</i>	Não detectado	31	21,5
		Detectado	113	78,5
	<i>Streptococcus gordonii</i>	Não detectado	10	6,9
		Detectado	134	93,1
	<i>Streptococcus mitis</i>	Não detectado	10	6,9
		Detectado	134	93,1

Avaliando somente o complexo microbiano vermelho é possível perceber que a bactéria *T. forsythia* foi significativa para a profundidade de bolsa à sondagem e ao

nível clínico de inserção, ambos de 4,0 a 5,0mm (Tabela 6). No complexo microbiano laranja, a bactéria *P. micra* obteve maiores quantidade de células para profundidade de bolsa e nível clínico de inserção  $\geq 6,0$ mm (Tabela 6). O complexo microbiano amarelo apresentou maior significância para as bactérias *S. oralis*, *S. intermedius* e *S. gordonii* em bolsas profundas e nível clínico de inserção  $\geq 6,0$ mm (Tabela 6).

**TABELA 6: COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPLEXOS MICROBIANOS, PROFUNDIDADE DE BOLSA E NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

(continua)

		Profundidade de bolsa à sondagem		Nível clínico de inserção		
			Média dos postos	Valor p*	Média dos postos	Valor p*
<b>Complexo vermelho</b>	Porphyromonas gingivalis	4 a 5	56,9	0,382	70,5	0,440
		Maior ou igual a 6	52,0		65,5	
	Treponema denticola	4 a 5	54,9	0,889	70,1	0,515
		Maior ou igual a 6	54,1		65,8	
	Tannerella forsythia	4 a 5	62,7	< 0,01	75,5	0,041
		Maior ou igual a 6	46,0		62,1	

(\*) Teste de Mann-Whitney.

**TABELA 6: COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPLEXOS MICROBIANOS, PROFUNDIDADE DE BOLSA E NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

				(conclusão)		
		Profundidade de bolsa à sondagem		Nível clínico de inserção		
		Média dos postos	Valor p*	Média dos postos	Valor p*	
<b>Complexo laranja</b>	<i>Streptococcus constellatus</i>	4 a 5	51,4	0,211	60,8	0,053
		Maior ou igual a 6	57,8		72,0	
	<i>Eubacterium nodatum</i>	4 a 5	50,2	0,135	60,3	0,068
		Maior ou igual a 6	58,9		72,4	
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. vincentii)</i>	4 a 5	52,2	0,415	63,1	0,267
		Maior ou igual a 6	56,9		70,5	
	<i>Campylobacter rectus</i>	4 a 5	53,2	0,629	65,8	0,663
		Maior ou igual a 6	55,9		68,6	
	<i>Parvimonas micra</i>	4 a 5	46,5	< 0,01	52,1	< 0,001
		Maior ou igual a 6	62,8		77,9	
	<i>Prevotella nigrescens</i>	4 a 5	48,3	0,029	61,2	0,105
		Maior ou igual a 6	60,9		71,8	
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. polymorphum)</i>	4 a 5	52,6	0,496	63,2	0,280
		Maior ou igual a 6	56,5		70,4	
<i>Campylobacter showae</i>	4 a 5	55,3	0,786	64,3	0,406	
	Maior ou igual a 6	53,7		69,7		
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	4 a 5	56,2	0,544	69,0	0,688	
	Maior ou igual a 6	52,7		66,5		
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	4 a 5	51,1	0,241	61,2	0,110	
	Maior ou igual a 6	58,0		71,8		
<i>Campylobacter gracilis</i>	4 a 5	51,4	0,286	60,5	0,076	
	Maior ou igual a 6	57,7		72,2		
<i>Prevotella intermedia</i>	4 a 5	52,7	0,535	68,2	0,865	
	Maior ou igual a 6	56,4		67,0		
<b>Complexo amarelo</b>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	4 a 5	51,4	0,170	65,7	0,544
		Maior ou igual a 6	58,7		69,5	
	<i>Streptococcus oralis</i>	4 a 5	33,0	< 0,001	41,0	< 0,001
		Maior ou igual a 6	45,4		52,8	
	<i>Streptococcus intermedius</i>	4 a 5	22,5	< 0,001	29,0	< 0,01
		Maior ou igual a 6	34,6		40,6	
	<i>Streptococcus gordonii</i>	4 a 5	32,0	< 0,001	43,0	< 0,01
		Maior ou igual a 6	43,8		53,1	
	<i>Streptococcus mitis</i>	4 a 5	46,0	0,012	57,0	0,081
		Maior ou igual a 6	52,1		61,9	

( \* ) Teste de Mann-Whitney.

A Tabela 7 apresenta as correlações entre os complexos microbianos e o sangramento à sondagem. O complexo vermelho não apresentou correlação com o sangramento à sondagem (SS). O complexo laranja apresentou correlações fracas positivas ao sangramento à sondagem, para as bactérias *F. nucleatum* (sp. *nucleatum*) ( $r = 0,175$ ), *P. micra* ( $r = 0,144$ ) e *P. intermedia* ( $r = 0,104$ ). O complexo amarelo apresentou correlação fraca positiva do sangramento à sondagem com *S. mitis* ( $r = 0,356$ ) e *S. sanguinis* ( $r = 0,296$ ). As correlações moderadas positivas foram: *S. oralis* ( $r = 0,587$ ), *S. intermedius* ( $r = 0,623$ ) e *S. gordonii* ( $r = 0,586$ ). As demais bactérias não apresentaram correlação entre os complexos microbianos e o sangramento à sondagem.

**TABELA 7: CORRELAÇÃO ENTRE OS COMPLEXOS MICROBIANOS E O SANGRAMENTO À SONDAÇÃO DAS MULHERES COM CÂNCER DE MAMA ASSISTIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES (HUCAM), NO ESPÍRITO SANTO**

		Sangramento à sondagem
<b>Complexo vermelho</b>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0,019
	<i>Treponema denticola</i>	0,005
	<i>Tannerella forsythia</i>	-0,166
<b>Complexo laranja</b>	<i>Streptococcus constellatus</i>	-0,001
	<i>Eubacterium nodatum</i>	0,013
	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>vincentii</i> )	0,073
	<i>Campylobacter rectus</i>	0,009
	<i>Parvimonas micra</i>	0,144
	<i>Prevotella nigrescens</i>	0,098
	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>polymorphum</i> )	0,123
	<i>Campylobacter showae</i>	0,063
	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	-0,088
	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>nucleatum</i> )	0,175*
	<i>Campylobacter gracilis</i>	0,096
<i>Prevotella intermedia</i>	0,104	
<b>Complexo amarelo</b>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0,296**
	<i>Streptococcus oralis</i>	0,587**
	<i>Streptococcus intermedius</i>	0,623**
	<i>Streptococcus gordonii</i>	0,586**
	<i>Streptococcus mitis</i>	0,356**

\*\* . A correlação é significativa ao nível de 1%.

\* . A correlação é significativa ao nível de 5%.

## 6 DISCUSSÃO

Atualmente, não se sabe se a inflamação sistêmica, a invasão de patógenos para o fluxo sanguíneo, ou a resposta imune à infecção periodontal pode ter um efeito no risco de câncer em geral (MICHAUD, 2008). Levando em consideração os efeitos sistêmicos da doença periodontal e o seu potencial para envolver o sistema imune como um marcador de susceptibilidade, uma investigação mais aprofundada sobre o papel da doença periodontal e câncer de mama, se justifica.

O câncer de mama é o tipo de câncer que mais acomete as mulheres no Mundo, correspondendo a 25,1% de todos os casos (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2015). É o câncer mais comum em mulheres de meia-idade (NACIONAL CANCER INSTITUTE, 2015). Cerca de 8 em cada 10 cânceres de mama são diagnosticados em mulheres com 50 anos ou mais (CANCER RESEARCH UK, 2015). Com base nos dados de 2008 à 2012, 21,6% dos casos correspondem a mulheres que estão na faixa etária de 45 à 54 anos e 25,6% de 55 à 64 anos (NACIONAL CANCER INSTITUTE, 2015), semelhante ao que foi encontrado em nosso estudo, visto que, a faixa etária das mulheres assistidas no HUCAM entre 51 à 58 anos correspondeu à 40,9% do total.

O câncer de mama não tem uma causa única. Diversos fatores estão relacionados ao aumento do risco de desenvolver a doença, tais como: idade, fatores endócrinos/história reprodutiva, fatores comportamentais/ambientais e fatores genéticos/hereditários (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ DE ALENCAR GOMES DA SILVA, 2015). Os fatores comportamentais/ambientais bem estabelecidos incluem a ingestão de bebida alcoólica, sobrepeso e obesidade na pós-menopausa, e exposição à radiação ionizante (COGLIANO et al., 2011; INUMARU; SILVEIRA; NAVES, 2011). No nosso estudo, observou-se que 90,9% das mulheres não são etilistas, semelhante ao descrito na literatura (LAGES, 2011).

O tabagismo é um fator de risco comum tanto para periodontite e em muitos tipos de tumores malignos. Desta forma, o fumo deve ser sempre levado em

consideração neste contexto (SÖDER et al., 2012; TANWIR; SADIA; SHAUKAT, 2012). O tabagismo, fator estudado ao longo dos anos, com resultados contraditórios, é atualmente reconhecido como agente carcinogênico com *limitada evidência* de aumento do risco de câncer de mama em humanos (COGLIANO et al., 2011; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2015). Na nossa amostra, 86,4% corresponderam a não tabagistas, mostrando que não teve relevância na associação da doença periodontal e câncer.

No tratamento do câncer de mama assim como no tratamento das doenças periodontais, a avaliação do paciente como um todo requer elucidar diferentes aspectos sistêmicos e psicossociais. A doença periodontal tem sido associada a muitas condições sistêmicas, tais como, doença pulmonar, complicações na gravidez, baixo peso ao nascimento, diabetes, doença cardiovascular, doença renal crônica (FITZPATRICK; KATZ, 2010) e artrite reumatóide (ROUTSIAS et al., 2011). Evidências de estudos epidemiológicos recentes sugerem uma ligação entre infecções periodontais e um aumento do risco de aterosclerose e relatos de eventos cerebrovasculares em humanos (PADILLA et al., 2006). Na caracterização da nossa amostra podemos observar, dentre os aspectos sistêmicos, que 34,1% das mulheres apresentavam hipertensão, 4,5% diabetes e 9,1% eram cardiopatas.

Estudos observacionais e epidemiológicos têm sido publicados, apontando uma associação do estresse, e fatores psicossociais, como sintomas de ansiedade e/ou depressão, como desenvolvimento e progressão das doenças periodontais (CASTRO, 2003; GENCO et al., 1999; HUGOSON; LJUNGQUIST; BREIVIK, 2002). Foi observado em nosso estudo que, 11,4% das pacientes encontravam-se sob tratamento para depressão e 18,2% estavam medicadas para o tratamento da ansiedade. Apesar de uma porcentagem pequena da amostra estar em tratamento para esses dois fatores psicossociais, depressão e ansiedade, muitas pacientes relatavam apresentar os sintomas, mas não estavam recebendo tratamento específico para essas condições. Ainda não há evidência suficiente na literatura que embasa a associação entre fatores psicossociais e de risco de câncer de mama (ARO et al., 2005). Entretanto, a pesquisa sobre o câncer de mama e estresse tem sido documentada por alguns estudos publicados ao longo dos anos (ARO et al., 2005; LILLBERG et al., 2003). Alguns desses estudos demonstram que o estresse

de alta intensidade pode ter uma associação limítrofe com o desenvolvimento de câncer de mama (LIN et al., 2013; SANTOS et al., 2009).

Devemos considerar também que o próprio tratamento para o câncer de mama já é um fator estressor potencial na vida das pacientes, entretanto não foram encontrados estudos correlacionando os fatores advindos do tratamento do câncer de mama na condição psicológica das pacientes tratadas. No nosso estudo a maioria das pacientes se encontravam em tratamento para o câncer de mama.

Há evidências de que condições periodontais pré-existentes podem se agravar durante o tratamento antineoplásico (VILLAFUERTE, 2014). Infecções periodontais podem ser facilmente negligenciadas, principalmente porque os sintomas de inflamação gengival podem ser mínimos e a infecção pode estar localizada subgengivalmente (RABER-DURLACHER et al., 2002). Previamente ao tratamento antineoplásico, a visita ao cirurgião-dentista é importante para prevenir possíveis problemas relacionados a complicações bucais e conhecer a condição periodontal deste paciente, diagnosticando a doença periodontal e prevenindo a progressão da mesma durante esse período. Poucos estudos mostram os efeitos da radioterapia ou quimioterapia no periodonto (BUENO, 2009).

Algumas complicações orais foram relacionadas aos pacientes submetidos à radioterapia das vias aerodigestivas superiores. Esses pacientes recebem altas doses de radiação que, incluem áreas extensas dos maxilares e glândulas salivares. Efeitos como: mucosite, hipossalivação, xerostomia, alteração do paladar, trismo, radiodermite, osteorradionecrose e infecções foram relatados. Alterações no equilíbrio do meio bucal, em consequência da radioterapia, como hipossalivação, e aumento do número de bactérias, associadas às mudanças dietéticas e qualidade de escovação favorecem ao desenvolvimento de cárie dentária e doença periodontal (FISCHER; EPSTEIN, 2008; FREITAS, et al., 2011; ÖHRN; WAHLIN; SJÖDÉN, 2001). As alterações bucais mais comumente associadas à quimioterapia são mucosite e infecções fúngicas. Outras alterações descritas são hemorragia gengival, neurotoxicidade e trombocitopenia (MCCARTHY et al., 1992). Pacientes que passam por quimioterapia ou possuem câncer que afetam diretamente a medula óssea, incluindo leucemia, linfoma e mieloma, ou metástases, podem apresentar

neutropenia. O periodonto infectado e inflamado pode agir como um foco de infecção sistêmica em pacientes neutropênicos. A incidência destas infecções orais é desconhecida, mas provavelmente subestimada. A avaliação da condição periodontal de um paciente antes do início da neutropenia profunda é fundamental para o diagnóstico e a gestão destas infecções com potencial risco de vida. Um número substancial destas infecções está associado com a mucosite oral, que é a consequência de uma interação complexa entre a toxicidade da quimioterapia para tecidos da mucosa oral, a mielossupressão e a microbiota oral (RABER-DURLACHER et al., 2002). Estes problemas podem causar desconforto considerável para os pacientes que lidam com uma doença potencialmente fatal. Todas as pacientes da amostra do nosso estudo relataram ter visitado o cirurgião-dentista recentemente, enquanto que apenas 15,9% relataram ter realizado tratamento de gengiva. O fato de todas as pacientes terem relatado visita regular ao dentista é um fator que denota uma preocupação com a saúde bucal, entretanto, avaliando as limitações da resposta a um questionário, devemos considerar que nem sempre a resposta dada reflete a realidade. Visto que, as pacientes podem se sentir induzidas a responder positivamente a essa questão.

Vários estudos mostram que a infecção crônica e inflamação persistente estão associados com aumento do risco de câncer (TEZAL, 2009; FITZPATRICK; KATZ, 2010; TANWIR; SADIA; SHAUKAT, 2012). Dessa forma, uma ligação entre a doença periodontal e câncer foi sugerida (ABNET et al., 2005; MICHAUD et al., 2008; FITZPATRICK; KATZ, 2010).

Os parâmetros clínicos para avaliação da condição clínica periodontal de um indivíduo inclui a avaliação clínica da inflamação dos tecidos periodontais, o registro das profundidades de sondagem e dos níveis clínicos de inserção e a avaliação radiográfica do osso alveolar. A profundidade de sondagem é uma medida que varia de acordo com a mudança da margem gengival, enquanto o nível clínico de inserção tem como parâmetro a junção cimento esmalte, revelando-se um parâmetro mais adequado para avaliar a severidade da perda de inserção (CARRANZA JR, 2007). Por sua vez, as lesões periodontais podem ser subdivididas em quatro diferentes diagnósticos: gengivite, periodontite superficial, periodontite profunda e periodontite inter-radicular. A gengivite é quando o dente permanece com profundidade do sulco

gingival a níveis de 1,0 a 3,0mm, sem perda óssea e de inserção e caracteriza-se por lesões restritas à margem gengival. A periodontite superficial apresenta profundidade de bolsa à sondagem  $\leq 5,0\text{mm}$  e a periodontite profunda apresenta profundidade de bolsa à sondagem  $\geq 6,0\text{mm}$ , ambas com sangramento à sondagem e perda óssea angular e/ou horizontal. A periodontite inter-radicular se refere à periodontite em região de furca (LINDHE, 2008). A determinação da profundidade de bolsa ou do nível clínico de inserção não proporciona informações sobre se a lesão está ativa ou inativa. Na atualidade, não há métodos seguros para determinar a atividade ou inatividade da lesão. As lesões inativas podem apresentar com pouco ou nenhum sangramento à sondagem e mínima quantidade de fluido gengival. As lesões ativas sangram à sondagem e têm maior quantidade de fluido gengival e exsudato. Em pacientes com periodontite agressiva, os sítios progressivos e não-progressivos podem não mostrar diferenças no sangramento à sondagem. A precisão na sondagem periodontal é de grande importância clínica, pois a prevalência da atividade doença, claramente depende do limiar utilizado para a identificação da perda de inserção (CARRANZA JR, 2007). Sabe-se que pacientes com perda de inserção clínica acima de 6,0mm é definida como periodontite profunda e a periodontite superficial  $\leq 5,0\text{mm}$ . Avaliando a condição periodontal das pacientes nesse estudo, podemos observar que 59% das mesmas, apresentavam bolsas de 4,0 a 5,0mm enquanto que 41% apresentavam bolsas  $\geq 6,0\text{mm}$ . O nível clínico de inserção em 28,2% foi de 4,0 a 5,0mm enquanto que em 71,8% atingiu profundidades  $\geq 6,0\text{mm}$ .

A inflamação gengival é o resultado de uma sobrecarga bacteriana que se deve, provavelmente, ao controle inadequado da placa. Alterações nos sistemas imunológico ou inflamatório podem provocar inflamação gengival visível. A instalação da periodontite crônica requer alguma predisposição adicional relacionada ao hospedeiro, tal como insuficiência de neutrófilos, forte ataque microbiano, ou incapacidade de produzir resposta imune efetiva aos microrganismos presentes na placa (CARRANZA JR, 2007). O sangramento a sondagem é um parâmetro clínico utilizado para avaliar a presença de inflamação subgengival (LINDHE, 2008). Avaliando os dados de sangramento à sondagem e índice de placa visível, podemos observar que 27,6% dos sítios avaliados foram positivos em relação ao sangramento a sondagem e 45,7% apresentavam placa visível. Dessa forma podemos identificar

que as pacientes avaliadas apresentavam um nível de inflamação significativa, porém moderada, já que é considerado um parâmetro de saúde periodontal ter menos de 10% dos sítios com sangramento à sondagem.

A técnica de hibridização de sondas genéticas com os DNAs bacterianos, utilizada neste trabalho para detecção bacteriana das amostras subgengivais das mulheres com câncer de mama, permitiu a análise de um grande número de microrganismos propiciando a compreensão da natureza do perfil dos complexos microbianos. Deve ser observado que as médias de contagens  $\times 10^5$  refletiram a sensibilidade e especificidade das sondas de DNA empregadas com os escores de  $<10^5$ ,  $= 10^5$ ; entre  $10^5$ - $10^6$  e  $>10^6$  células para todas as pacientes com bolsas periodontais  $>4,0$ mm. As contagens de células bacterianas encontradas foram altamente prevalentes para os microrganismos, *Actinomyces israelii* (9,3%) e *A. gerencseriae* (7,6%) pertencentes ao complexo azul, *Streptococcus mitis* (8,3%) do complexo amarelo e *Fusobacterium nucleatum (sp.vincentii)* (8,1%) do complexo laranja. A detecção das espécies *Actinomyces israelii*, *A. gerencseriae* e *S. mitis* diferem totalmente dos resultados encontrados na literatura (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005), mas o *F. nucleatum (sp. vincentii)* foi descrito como uma espécie prevalente na periodontite em indivíduos com periodontite e sistemicamente saudáveis (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002).

Estudos utilizando predominantemente técnicas de cultura e de microscopia para identificar espécies bacterianas resultaram na criação de um grupo de espécies às quais foram atribuídas um papel na destruição das doenças periodontais. Três espécies, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *T. forsythia*, foram fortemente associadas com o estado de doença periodontal. Outras espécies, como *F. nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *Eubacterium nodatum*, *P. micra* e vários espiroquetas também foram implicados em causar doenças periodontais, embora a evidência de seu papel causal é menos extensa (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Em um estudo com 116 pacientes com diagnóstico de periodontite, através de técnicas de cultura e de microscopia, foram observadas significâncias estatísticas para prevalência de *A.actinomycetemcomitans* (31%), *P. gingivalis* (59,5%), *P. intermedia* (87,9%), *T forsythia* (90,5%), *P. micra*

(94%) e *F. nucleatum* (95,7%) (WINKELHOFF et al., 2002). Em outro estudo utilizando a técnica de hibridização de DNA-DNA foram encontradas em 177 placas subgengivais o aumento da prevalência de *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* em indivíduos com doença periodontal. Outros periodontopatógenos incluindo *F. nucleatum* (*sp. vincentii*), *C. rectus* e *P. intermedia* também foram mais prevalentes na periodontite (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002).

A prevalência de *S. mitis* encontrada em nosso estudo, colabora com as evidências na literatura para correlação com câncer. Foram avaliadas 40 bactérias orais comuns em amostras de saliva de 45 indivíduos com câncer de células escamosas de boca em comparação com 229 indivíduos saudáveis, usando método de hibridização de DNA-DNA. Três espécies testadas, *Capnocytophaga gingivalis*, *Prevotella melaninogenica* e *Streptococcus mitis*, apresentaram contagens médias elevadas na saliva de indivíduos com câncer de células escamosas de boca. Quando testado como marcadores de diagnóstico as três espécies foram encontrados para 80% dos casos de câncer. Em saliva, a presença de contagens altas de *C. gingivalis*, *P. melaninogenica* e *S. mitis* em saliva podem ser indicadores de diagnóstico de câncer de células escamosas de boca (MAGER et al., 2005).

A metodologia baseada em DNA para a identificação e detecção de bactérias e vírus específicos oferece imensas vantagens em economia de tempo e dinheiro, em comparação às técnicas de cultura. A capacidade atual de detecção de microrganismos, que não podiam ser cultivados antigamente, pode destacar limitações dos achados dos estudos realizados através de técnicas de cultura. O conhecimento da resposta do hospedeiro é de grande significância e poderá ajudar a entender a gravidade e o tratamento das infecções periodontais. O reconhecimento da atividade benéfica de diversas espécies bacterianas comensais, pode levar a novas estratégias para a terapêutica periodontal (CARRANZA JR, 2007). Nossos resultados demonstram a existência de uma microbiota comensal, classicamente denominada de espécies benéficas ou microbiota normal, representada pelos membros do complexo amarelo e azul, as quais simulam em alguma extensão o padrão da sucessão microbiana da placa (SOCRANSKY et al., 1998). Na maioria das vezes, estas espécies podem ser bem compatíveis com o hospedeiro, ou seja, residentes comuns dos sítios detectados; entretanto, algumas

vezes, estas espécies contribuem para a patogênese da condição periodontal (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Assim, as espécies dos complexos azul, amarelo, verde e violeta são colonizadores primários das superfícies dentárias, e o crescimento destas bactérias precede a multiplicação de espécies gram-negativas dos complexos laranja e vermelho. Além disso, estes microrganismos podem atuar como pontes para os membros do complexo laranja e estes por sua vez, alcançar o complexo vermelho, como parte final integrante desta cadeia alimentar, pois são microrganismos de crescimento mais lento, anaeróbios e necessitam de mais tempo para se recolonizarem (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

Nos últimos anos, a relação entre a saúde bucal e sistêmica tem recebido atenção crescente. A disseminação microbiana é um dos fatores mais complexos que suportam essa interação (BALEJO; PORTO; CORTELI, 2014). Um estudo com nove amostras observou associação entre bactérias periodontais e placas de ateroma. *Porphyromonas gingivalis* foi a bactéria mais comum, em sete casos. *T. forsythia* foi encontrada em apenas dois casos e *P. intermedia* em quatro casos (PADILLA et al., 2006). Várias bactérias orais têm sido estudadas na associação com a etiologia da artrite reumatóide. Estudos clínicos têm detectado DNA de *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *Prevotella nigrescens* nos soros e nos fluidos sinoviais de pacientes com artrite reumatóide (KAUR; WHITE; BARTOLD, 2013; TOTARO et al., 2013). Nos últimos anos, *P. gingivalis* tem sido observada como uma importante conexão entre artrite reumatóide e periodontite (KAUR; WHITE; BARTOLD, 2013; KOZIEL; MYDEL; POTEMPA, 2014; OGRENDIK, 2013; TOTARO, et al., 2013). *P. gingivalis* foi encontrada como o microrganismo primário para o desenvolvimento e progressão da artrite reumatóide (KOZIEL; MYDEL; POTEMPA, 2014; OGRENDIK, 2013; TOTARO et al., 2013). A doença periodontal severa está associada com o aumento da frequência de *Candida albicans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *Treponema denticola* em pacientes com doença renal crônica (BASTOS et al., 2011).

Nosso estudo observou que *P. gingivalis* estava presente em 94,4% das bolsas periodontais das mulheres com câncer de mama. Atualmente, cerca de um quarto das doenças malignas em todo o mundo são atribuídas à contribuição microbiana (ATASANOVA; YILMAZ, 2015). Os microrganismos *P. gingivalis* e *F.*

*nucleatum* tem chamado a atenção por sua capacidade de modular o equilíbrio da microbiota e as subsequentes interações com a mucosa do hospedeiro e a imunidade (ATASANOVA; YILMAZ, 2015). A elevada carga bacteriana nas superfícies dos dentes e em bolsas gengivais durante um tempo prolongado pode de fato, desempenhar um papel na carcinogênese (SÖDER, 2012). Parece que *Porphyromonas gingivalis* é cancerígeno, porque ele ativa uma série de respostas imunológicas inflamatórias no hospedeiro e causa transtornos em mecanismos de eliminação de bactérias. Há pouca informação sobre a prevalência desta bactéria em pacientes com câncer (SAYEHMIRI et al., 2015). Entre as espécies microbianas conhecidas da cavidade oral, *P. gingivalis* teve maior correlação com carcinoma epidermóide de boca (ATASANOVA; YILMAZ, 2014; INABA et al., 2014; HOOPER et al., 2006) e foi um importante fator de risco independente na associação com câncer de pâncreas (AHN; SEGERS; HAYE, 2012; ATASANOVA; YILMAZ, 2014; MICHAUD et al., 2013).

O microrganismo *F. nucleatum* foi encontrado em tecidos tumorais coloretais e, além disso, a carga bacteriana do *F. nucleatum* parece aumentar com a progressão da doença do câncer coloretal (FLANAGAN, 2014; TAHARA et al., 2014). Nossos resultados apontam uma frequência de 96,5% de *F. nucleatum* nas bolsas periodontais das mulheres com câncer de mama, corroborando com a literatura acima para a observação deste patógeno bucal associado com o câncer de mama.

Apesar da complexidade dessa associação, existe uma forte indicação de que bactérias altamente virulentas como *P.gingivalis* e *F. nucleatum* desempenham um papel significativo nos processos moleculares que contribuem para a malignização das células do tecido hospedeiro. Portanto, a presença dessas bactérias específicas pode ser utilizada no futuro como fator preditivo de câncer, possibilitando assim o diagnóstico e tratamento precoce (ATASANOVA; YILMAZ, 2015).

Tanto *P. gingivalis* e *F. nucleatum* incidem sobre aspectos da sinalização da severidade de células epiteliais que tenham relevância para a progressão do câncer. Ambos têm atributos consistentes com um papel no desenvolvimento e progressão do câncer. Fica o questionamento de porque a infecção generalizada com estes

organismos leva à doença em apenas em um número limitado de indivíduos. Parte da resposta pode estar relacionada com a natureza da comunidade das bactérias. No entanto, uma outra consideração é a etiologia multifatorial de câncer, e, neste quadro, as bactérias orais específicas e seus eventos inflamatórios associados podem desempenhar um papel contributivo, mas não exclusivo. As implicações do envolvimento de bactérias orais em câncer são muitos. A detecção de *P. gingivalis* ou *F. nucleatum* em lesões pré-cancerosas poderia ser usada como um pobre indicador de prognóstico. Higiene oral melhorada e tratamento da periodontite podem ser úteis para limitar o desenvolvimento ou a propagação do câncer. Uma vez que fatores de virulência bem caracterizados de *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, tais como as adesinas FimA e FadA, podem funcionar como moléculas efetoras na transição de células epiteliais normais em células cancerosas, que podem fornecer novos alvos para intervenção terapêutica (WHITMORE; LAMONT, 2014).

Além disso, a alta complexidade dos eventos cancerígenos relacionados com a microbiota, o hospedeiro e ambiente, podem explicar as diferenças na suscetibilidade dos indivíduos para transformação maligna. Destaca-se a necessidade de abordagem individual para possível prevenção e gestão desses tipos de câncer, e provavelmente outras doenças crônicas associadas a alterações na microbiota oral (ATASANOVA; YILMAZ, 2015).

De acordo com evidências atuais, a doença periodontal está fortemente associada com as bactérias do complexo vermelho, *T. forsythia*, *T. denticola* e *P. gingivalis* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). A perda de inserção e perda óssea estão associadas a um aumento na proporção de microrganismos gram-negativos patogênicos e virulentos no biofilme da placa subgengival (CARRANZA JR, 2007). O descuido de hábitos saudáveis de alimentação e de higiene bucal é relacionado com o desenvolvimento de infecções, instalação do complexo vermelho e o desenvolvimento da doença periodontal (RAMOS, 2012). A placa microbiana desempenha um papel fundamental no processo patogênico, de modo que o único método universalmente aceito para interromper a destruição periodontal é o emprego de uma estratégia antimicrobiana, na qual a raspagem e o alisamento radicular e a manutenção da higiene oral são geralmente eficazes.

Um estudo com 37 indivíduos jovens saudáveis foram coletadas amostras de placas supragengivais e identificadas baixas frequências das bactérias pertencentes ao complexo vermelho, porém *T. forsythia* (13,5%) foi a que teve maior incidência (EBERHARD et al., 2013). Esses resultados são semelhantes ao encontrado no nosso estudo, pois a análise dos parâmetros clínicos de profundidade de bolsa e nível clínico de inserção com o complexo microbiano vermelho, mostrou forte correlação na profundidade de bolsa à sondagem de 4,0 a 5,0mm e a presença da bactéria *T. forsythia*. O acompanhamento longitudinal dessas pacientes, e a observação da resposta das mesmas ao tratamento periodontal trarão resultados que embasarão a terapêutica periodontal em paciente com câncer de mama. O desenvolvimento de um protocolo de acompanhamento dessas pacientes e monitoramento da saúde periodontal pela terapia de suporte pode levar a uma manutenção do nível clínico de inserção, diminuindo a perda de inserção futura pela progressão da doença periodontal.

Relacionando os parâmetros clínicos periodontais com a presença de bactérias do complexo laranja, a *Parvimonas micra* teve um resultado estatisticamente significativo para profundidade de bolsa à sondagem e nível clínico de inserção  $\geq 6,0\text{mm}$ . Em um estudo com 177 amostras de placas subgengivais, através da utilização da técnica de hibridização de DNA, foi observada uma pequena e relevante significância estatística de pacientes com periodontite e bactéria *P. micra* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Quando realizamos essa comparação com as bactérias do complexo amarelo, *S. oralis*, *S. intermedius*, *S. gordonii* tiveram a mesma correlação estatisticamente significativa para profundidade de bolsa à sondagem e nível clínico de inserção  $\geq 6,0\text{mm}$ . No mesmo estudo já citado, foram observadas que as bactérias do complexo amarelo *S. oralis*, *S. intermedius*, *S. gordonii* e *S. mitis* apresentaram significância estatística em pacientes diagnosticados com doença periodontal (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002).

Algumas das mudanças que ocorrem em um indivíduo que progride da saúde periodontal para a doença periodontal podem ser inferidas ao examinar perfis microbianos médios em indivíduos com diferentes gravidades de periodontite. Foram analisados perfis microbianos médios de amostras subgengivais de 184 indivíduos periodontalmente saudáveis e 592 indivíduos com periodontite crônica. Em média,

contagens subgingivais são mais elevados nos indivíduos com periodontite do que nos indivíduos periodontalmente saudáveis. As principais diferenças entre a saúde e a doença ocorrem principalmente entre as espécies dos complexos de vermelho e laranja. De fato, 11 de 12 espécies no complexo laranja e todos os três membros do complexo vermelho foram significativamente elevadas nos indivíduos com periodontite mesmo após o ajuste para múltiplas comparações. Estes dados estão de acordo com estudos na literatura que tenham utilizado PCR para examinar frequência de detecção na saúde e na doença, PCR em tempo real, cultura, sondas de DNA, e as técnicas baseadas em anticorpos. Outras espécies, incluindo espécies "incultiváveis", também têm sido sugeridas para serem detectadas mais frequentemente em doenças do que em saúde usando técnicas de PCR. Existe uma notável mudança na composição das médias dos perfis microbianos em relação ao aumento da gravidade da doença. Esta mudança é particularmente marcante para as espécies do complexo vermelho, que aumentam com o aumento da profundidade de bolsa, e, em certa medida, para algumas das espécies do complexo laranja. A mudança no perfil significativo microbiano pode ser diretamente relacionado com o aumento do número de bolsas periodontais nos grupos mais doentes, uma vez que a profundidade da bolsa num local relacionam-se assim fortemente com a composição da microbiota subgingival. Os dados indicam que existem poucas relações com a profundidade da bolsa para a maioria das espécies microbianas; no entanto, a maioria das espécies do complexo laranja e todas as espécies do complexo vermelho cresce significativamente com o aumento da profundidade de bolsa. Um número de possíveis razões para a relação de maior profundidade de bolsa com aumento dos níveis de espécies do complexo vermelho e laranja podem ser sugeridas. Bolsas mais profundas têm uma maior área de superfície epitelial ao qual as espécies do complexo vermelho como *P. gingivalis* e *T. denticola* podem aderir. A zona de bactérias fracamente aderentes que parece conter grandes proporções de espécies do complexo laranja é aumentada em bolsas profundos em relação a bolsas rasas. Além disso, fatores locais podem limitar o crescimento de espécies relacionadas ao dente enquanto promovem o crescimento de espécies associadas ao epitélio. Por exemplo, a disponibilidade de hidratos de carbono fermentáveis pode limitar o crescimento de bactérias sacarolíticas no biofilme associado ao dente, enquanto que uma abundância relativa das fontes de energia de hidratos de carbono não, tais como o hidrogênio, produtos finais de ácido

e produtos de degradação da proteína pode sustentar um melhor crescimento de algumas espécies assacarolíticas dos complexos laranja e vermelho. A presença de inflamação gengival num local também afeta a composição da microbiota nesse local (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

O perfil clínico clássico de atuação de membros do complexo vermelho na progressão da doença periodontal é o sangramento a sondagem (RAMOS, 2012; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Locais que apresentam o sangramento à sondagem como um indicador clínico de inflamação periodontal, mostram elevada significância de bactérias dos complexos vermelho e laranja (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005). As espécies encontradas em número elevado nos sítios inflamados podem se beneficiar dessa inflamação, pois a mesma eleva a secreção do fluido crevicular gengival, que é uma fonte de nutrientes para essas bactérias, além dos produtos gerados pela degradação dos tecidos que podem favorecer o crescimento de bactérias que necessitam de proteínas, peptídeos ou produtos metabólicos para o seu crescimento. Diferente do que é descrito na literatura, o complexo vermelho não teve relevância. Nossa amostra observou maior significância estatística das bactérias do complexo amarelo na correlação com o sangramento à sondagem. E no complexo laranja, apenas o *Fusobacterium nucleatum* mostrou significância nessa correlação. Estudos longitudinais controlados fracassaram em demonstrar uma correlação significativa entre o sangramento à sondagem a outros sinais clínicos e subsequente perda de inserção. Uma limitação adicional da utilização do sangramento como parâmetro inflamatório é a possibilidade de que sítios saudáveis possam sangrar à sondagem. Portanto, o sangramento à sondagem não é um bom indicador de perda progressiva de inserção; no entanto, a sua ausência é um indicador de estabilidade periodontal. Além de ser um indicador da inflamação gengival, há sugestões que o sangramento gengival é também um indicador da atividade da doença periodontal; contudo, sua relação com a progressão da doença não está clara (CARRANZA JR, 2007). Provavelmente o número de amostras analisadas, em nosso estudo, tenha sido insuficiente para encontrar uma correlação estatisticamente significante entre o complexo vermelho e o parâmetro sangramento à sondagem, sendo esta uma limitação do estudo.

Como alguns estudos mostram a relação entre a carga bacteriana e o desenvolvimento e progressão do câncer (ARORA et al., 2010; HUJOEL et al., 2003), o controle do biofilme oral a fim de reduzir a carga microbiana da boca, é justificável para combater o desenvolvimento carcinogênico. Apesar do papel das bactérias periodontopatogênicas na etiopatogênese da lesão de câncer de mama ainda não estar esclarecida na literatura, mais estudos clínicos randomizados controlados são necessários para determinar se existe qualquer elemento causal na associação da doença periodontal e câncer de mama.

## 7 CONCLUSÕES

Dentro das limitações desse estudo considerando um número de amostras reduzidas e o não acompanhamento longitudinal dessas pacientes, podemos concluir que:

1. As características demográficas, sociais, clínicas e comportamentais da amostra demonstram semelhanças com as publicações escassas na literatura;
2. Os parâmetros clínicos periodontais mostram que 59% das pacientes apresentam bolsas moderadas (4,0 a 5,0 mm), 71,8% das pacientes apresentam nível clínico de inserção  $\geq 6$ mm, índice de placa visível em 45,7% das faces dentárias avaliadas e sangramento a sondagem em 27,6% dos sítios avaliados;
3. O perfil microbiológico periodontal das mulheres com câncer de mama difere do perfil microbiológico encontrado na doença periodontal em pacientes saudáveis com doença periodontal. As amostras de placas subgengivais dos sítios coletados mostram maior proporção (%) para *Treponema denticola*, bactéria pertencente ao complexo vermelho e o *Fusobacterium periodonticum* do complexo laranja.
4. No complexo microbiano laranja, a *Parvimonas micra* tem uma relação significativa com os parâmetros clínicos periodontais, profundidade de bolsa à sondagem e nível clínico de inserção, enquanto que *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus mitis*, pertencentes ao complexo amarelo, apresentam significâncias para profundidade de bolsa à sondagem e nível clínico de inserção. Entre as bactérias do complexo vermelho, a *Tannerella forsythia* tem maior significância com bolsas periodontais moderadas e perda de inserção.

## REFERÊNCIAS

ABNET, C. C. et al. Tooth Loss is Associated with Increased Risk of Total Death and Death from Upper Gastrointestinal Cancer, Heart Disease, and Stroke in a Chinese Population-based Cohort. **Int J Epidemiol**, v. 34, n. 2, p. 467-474, abr. 2005.

AHN, J.; SEGERS, S.; HAYE, R. B. Periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis* serum antibody levels and orodigestive cancer mortality. **Carcinog**, v. 33, n. 5, p. 1055-1058, 2012.

AINAMO J, BAY I. Problems and Proposals for Recording Gingivitis and Plaque. **Int J Dent**, v. 25, p. 229-235, 1975.

AMAR, S. LEEMAN, S. Periodontal innate immune mechanisms relevant to obesity. **Mol. Oral Microbiol.** v. 28, n. 5, p. 331-341, 2013.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. **Periodontal Disease Fact Sheet**. Disponível em: <<https://www.perio.org/newsroom/periodontal-disease-fact-sheet>>. Acesso em: 05 de dezembro de 2015.

ARMITAGE, G. C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. **Ann Periodontol**, v. 4, n. 1, dez. 1999.

ARMITAGE, G. C. Periodontal Diagnoses and Classification of Periodontal Diseases. **Periodontol 2000**, v. 34, n. 1, p. 9-21, fev. 2004.

ARMITAGE, G. C.; ROBERTSON, P. B. The biology, prevention, diagnosis and treatment of periodontal diseases: scientific advances in the United States. **J. Am. Dent. Assoc.** v. 140, p. 36S-43S, 2009.

ARO, A. R. et al. Psychological risk factors of incidence of breast cancer: a prospective cohort study in Finland. **Psycho Med**, v. 35, n. 10, p. 1515-1521, out. 2005.

ARORA, M. et al. An Exploration of Shared Genetic Risk Factors Between Periodontal Disease and Cancers: A Prospective Co-Twin Study . **Am J Epidemiol**, v. 171, n 2, p. 253–259, 2010.

ATASANOVA, K. R.; YILMAZ, Ö. Looking in the *Porphyromonas gingivalis* cabinet of curiosities: the microbium, the host and cancer association. **Mol Oral Microbiol**, v. 29, n. 2, p. 55-66, abr. 2014.

ATASANOVA, K. R.; YILMAZ, Ö. Prelude to oral microbes and chronic diseases: past, present and future. **Microb Infect**, v. 17, n. 7, p. 473-483, jul. 2015

BALEJO, R. D. P.; PORTO, S.; CORTELLI, S. C. Bacteriemia em pacientes periodontais: revisão de literatura. **Braz J Periodontol**, v. 24, n. 4, p. 29-40, dez. 2014.

BASTOS, J. A. et al. Identification of periodontal pathogens and severity of periodontitis in patients with and without chronic kidney disease. **Arch Oral Biol**, v. 56, p. 804-811, 2011.

BOSTANCI, N. BELIBASAKIS, G. N. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. **FEMS Microbiol. Lett.** v. 333, p. 1-9, 2012.

BUENO, A. C. **Condição periodontal de indivíduos submetidos à radioterapia associada ou não à quimioterapia das vias aerodigestivas superiores - um estudo prospectivo.** 2009. 60f. Dissertação. (Mestrado em Clínica Odontológica) – Programa de pós-graduação em odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

CANCER RESEARCH UK. **Cancer Statistics for the UK.** Disponível em: <<http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics#heading-Zero>>. Acesso em: 20 de outubro de 2015.

\_\_\_\_\_. **Breast Cancer Statistics for the UK.** Disponível em: <<http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/breast-cancer>>. Acesso em: 20 de outubro de 2015.

CARRANZA JR, F., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**, São Paulo, Elsevier, 10ed. 2007. 1328p.

CASTELLARIN, M. et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. **Genome Res**, v. 22, n. 2, p. 299-306, 2012.

CASTRO, G. D. **Associação entre eventos de vida, ansiedade e depressão e a doença periodontal.** 2003. 118f. Dissertação. (Mestrado em Clínica Odontológica) - Programa de pós-graduação em odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

CHAMBRONE, L.; LIMA L. A. P. A.; CHAMBRONE, L. A. Prevalência das Doenças Periodontais no Brasil. Parte II. 1993-2003. **Revista Odonto**. v. 16, n. 31, jan. jun. 2008.

COGLIANO, V. J. et al. Preventable Exposures Associated with Human Cancers. **J Natl Cancer Inst**, v. 103, n. 24, p. 1-13, dez. 2011.

COSTALONGA, M.; HERZBERG, M. C. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. **Immunology Letters**, v. 162, p. 22-38, 2014.

EBERHARD, J. et al. Experimental Gingivitis Induces Systemic Inflammatory Markers in Young Healthy Individuals: A Single-Subject Interventional Study. **PLOS ONE**, v. 8, n. 2, fev. 2013.

FARRELL, J. et al. Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer. **Gut**, v. 61, p. 582-588, 2012.

- FISCHER, D. J.; EPSTEIN, J. B. Management of patients who have undergone head and neck cancer therapy. **Dent Clin North Am**, v.52, n. 1, p.39-60, 2008.
- FITZPATRICK, S. G.; KATZ, J. The association between periodontal disease and cancer: A review of the literature. **J Dent**, v. 38, n. 2 , p. 83-95, fev. 2010.
- FLANAGAN, L. et al. Fusobacterium nucleatum associates with stages of colorectal neoplasia development, colorectal cancer and disease outcome. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 33, p. 1381-1390, 2014.
- FREITAS, D. A. et al. Sequelas bucais da radioterapia de cabeça e pescoço. **Rev CEFAC**, v. 13, n. 6, p. 1103-1108, nov. 2011.
- GENCO, R. J. Current view of risk factors for periodontal diseases. **J Periodontol**, v. 67, n. 10, p. 1041-1049, out. 1996.
- GENCO, R. J. et al. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. **J Periodontol**, v. 70, n. 7, p. 711-723, jul. 1999.
- GENCO, R. J.; BORGNAKKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontol**. 2000. v. 62, n. 1, p. 59-94, 2013.
- GHIZONI, J. S. **Avaliação e correlação da doença periodontal com acidente vascular cerebral por meio da identificação e quantificação da Porphyromonas gingivalis e Aggregatibacter actinomycetemcomitans por PCR convencional e PCR em tempo real**. 2007. 116f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru, Bauru.
- GREENBERG, M. A. et al. The Oral Flora as a Source of Septicemia in Patients with Acute leukemia. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 53, n. 1, p. 32-36, jan. 1982.
- HAMP, S. E. et al. Periodontal Treatment of Multirooted Teeth. Results After 5 years. **J Clin Periodontol**, v. 2, p. 126-13, 1975.
- HAN, Y. W. Oral bacteria as drivers for colorectal cancer. **J Periodontol**, v. 85, n. 9, p. 1155-1157, 2014.
- HOOVER, S. J. et al. Viable bacteria present within oral squamous cell carcinoma. **J Clin Microbiol**, v. 44, n. 5, p. 1719-1725, mai. 2006.
- HUGOSON, A; LJUNGQUIST, B; BREIVIK, T. The relationship of some negative events and psychological factors to periodontal disease in na adult swedish population 50 to 80 years of age. **J Clin Periodontol**, v. 29, n. 3, p. 247-254, mar. 2002.
- HUJOEL, P. P. et al. An Exploration of the Periodontitis–Cancer Association. **AEP**, v. 13, n. 5, p. 312-316, mai. 2003.
- INABA, H. et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation. **Cell Microbiol**, v. 16, n. 1, p. 131-145, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA – INCA. **Falando sobre o câncer de mama**. 66p. Rio de Janeiro, 2002.

\_\_\_\_\_. **Incidência de Câncer no Brasil 2014**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/sintese-de-resultados-comentarios.asp>>. Acesso em: 23 de outubro de 2015.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC. **GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012**. Disponível em: <[http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx)>. Acesso em: 23 de outubro de 2015.

\_\_\_\_\_. **List of Classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans, Volumes 1 to 103\***. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/Table4.pdf>>. Acesso em: 23 de outubro de 2015.

INUMARU, L. E.; SILVEIRA, E. A.; NAVES, M. M. V. Fatores de risco e de proteção para câncer de mama: uma revisão sistemática. **Cad Saúde Púb**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 7, p. 1259-1270, 2011.

KANG, M. S. et al. Prevalence of oral microbes in the saliva of oncological patients. **Journal of Bacteriology and Virology**, v. 39, n. 4; p. 277–285, 2009.

KATZ, J. et al. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in gingival squamous cell carcinoma. **Int. J. Oral Sci.** v. 3, n. 4, p. 209-215, 2011.

KAUR, S.; WHITE, S.; BARTOLD, P. M. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. **J Dent Res**, v. 92, n. 5, p. 399-408, 2013.

KOZIEL, J.; MYDEL, P.; POTEMPA, J. The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. **Curr Rheumatol Reports**, v. 16, 2014.

KUBONIWA, M. et al. Specific antibodies to *Porphyromonas gingivalis* Lys-gingipain bt DNA vaccination inhibit bacterial binding to hemoglobin and protect mice from infection. **Infect. Immun.** v. 69, p. 2972-2979, 2001.

KUMAR, P. S. Oral microbiota and systemic disease. **Anaerobe**, v.24, p.90-93, 2013.

LAGES, E. J. P. **Aspectos Epidemiológicos, Microbiológicos e Imunológicos da Associação entre Alcoolismo e Periodontite**. 2011. 108f. Tese. (Doutorado em Odontologia) - Colegiado de Pós-Graduação, Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

LAMONT, R. J. et al. *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells **Infect. Immun.** v. 63, p. 3878-3885, 1995.

LILLBERG, K. et al. Stressful life events and risk of breast cancer in 10,808 women: a cohort study. **Am J Epidemiol**, v. 157, n. 5, p. 415-423, 2003.

LIN, Y. et al. Striking life events associated with primary breast cancer susceptibility in women: a meta-analysis study. **J Exp Clinical Res**, v. 32, p. 53, ago. 2013.

LINDHE, J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MAGER, D. L. et al. The salivary microbiota as a diagnostic indicator of oral cancer: A descriptive, non-randomized study of cancer-free and oral squamous cell carcinoma subjects. **J Transl Med**. v. 3, n. 27, p. 1-8, 2005.

MANTOVANI, A. et al. Cancer-related inflammation. **Nature**, v. 454, p.436-444, jul. 2008.

MAO, S. et al. Intrinsic apoptotic pathways of gingival epithelial cells modulated by *Porphyromonas gingivalis*. **Cell Microbiol**. v. 9, p. 1997-2007, 2007.

MCCARTHY, G. M. et al. Orofacial complications of chemotherapy for breast cancer. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 74, n. 2, p. 172-178, 1992.

MICHAUD, D. S. et al. A prospective study of periodontal disease and pancreatic cancer in US male health professionals. **J Natl Cancer Inst**, v. 99, n. 2, p. 171-175, jan. 2007.

MICHAUD, D. S. et. al. Periodontal Disease, Tooth Loss and Cancer Risk in a Prospective Study of Male Health Professionals. **Lancet Oncol**, v.9, n. 6, p. 550-558, jun. 2008.

MICHAUD, D. S. Role of bacterial infections in pancreatic cancer. **Carcinogenesis**. v.34, n.10, p. 2193–2197, 2013.

MICHAUD, D. S. et. al. Plasma antibodies to oral bacteria and risk of pancreatic cancer in a large European prospective cohort study. **Gut**, v. 62, n. 12, p. 1764–1770, 2013.

MIGLIORATI, C. A. Periodontal diseases and cancer. **Lancet Oncol**. v.9, n.6, p.510-512, jun. 2008.

MOORE, W. E. C. et. al. Bacteriology of Moderate (chronic) Periodontitis in Mature Adult Humans. **Infect Immun**, v. 42, n. 2, p. 510-515, nov. 1983.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **SEER Cancer Stat Fact Sheets: Breast Cancer 1975-2012**. Disponível em: <<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>>. Acesso em: 20 de outubro de 2015.

NISHIYAMA, S. A. B. **Possíveis impactos da cirurgia bariátrica sobre a saúde periodontal de indivíduos obesos. Determinação do perfil microbiológico e**

**imunológico**. 2013. 100f. Tese. (Doutora em Ciências) - Programa de pós-graduação em microbiologia, Universidade de São Paulo. São Paulo.

OGRENDIK, M. Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease caused by periodontal pathogens. **Int J general Med**. v. 6, p. 383-38, mai. 2013.

OLIVEIRA, L. R. et al. Ocorrência, extensão e gravidade da doença periodontal em pacientes que serão submetidos à radioterapia e/ou quimioterapia. **Arquivos em Odontologia**. v. 44, n. 1, p. 35-40, jan. 2008.

OPPERMAN, R. V., ROSING, C. K. **Periodontia ciência e clínica**. São Paulo, Artes Médicas, 2001.

PADILLA, C. et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. **J Periodont Res**. v. 41, p. 350-353, 2006.

PARK, Y. et al. Identification of *Porphyromonas gingivalis* genes specifically expressed in human gingival epithelial cells by using differential display reverse transcription-PCR. **Infect. Immun**. v. 72, p. 3752-3758, 2004.

PASTER, B. J. et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **J. Bacteriol**. v. 183, n. 12, p. 3770-3783, 2001.

PETERSON, D. E. et al. Microbiology of Acute Periodontal Infection in Myelosuppressed Cancer Patients. **J Clin Oncol**, v. 5, n.9, p. 1461-1468, set. 1987.

PUSSINEN, P. J. et al. Antibodies to periodontal pathogens are associated with coronary heart disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 7, p. 1250-1254, 2003.

PUSSINEN, P. J. et al. High serum antibody levels to *Porphyromonas gingivalis* predict myocardial infarction. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 11, n. 5, p. 408-411, 2004.

RABER-DURLACHER, J. E. et al. Periodontal infection in cancer patients treated with high-dose chemotherapy. **Support Care Cancer**, v. 10, p. 466-473, 2002.

RAMOS, M. M. B. **Condições periodontais e presença de microrganismos do complexo vermelho de Socransky na boca de pacientes com e sem dependência química**. 2012. 74f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP. São Paulo.

ROSA, M. I et. al. Periodontal disease treatment and risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis. **Cad Saúde Pú**, v. 28, n. 10, p. 1823-1833, out. 2012.

ROTH, G. A. et al. *Porphyromonas gingivalis* infection and cell death in human aortic endothelial cells. **FEMS Microbiol. Lett**. v. 272, p. 106-113, 2007.

ROUTSIAS, J. G. et al. Autopathogenic correlation of periodontitis and rheumatoid arthritis. **Rheumatol**, v. 50, n. 7, p. 1189-1193, 2011.

SANTOS, M. C. et. al. Association between stress and breast cancer in women: a meta-analysis. **Cad Saúde Pú**, v. 25, n. 3, p. S453-S463, 2009.

SARAIVA, A. P. C. **Periodontite e aterosclerose: a busca de evidências**. 2010. 107f. Tese (Doutorado em Ciências) – Pós Graduação em Enfermagem Fundamental, Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

SAYEHMIRI, F. et. al. The prevalence rate of *Porphyromonas gingivalis* and its association with cancer: A systematic review and meta-analysis. **Int J Immunopathol Pharmacol**, v. 28, n. 2, p. 160-167, jun. 2015

SIMÕES, C. A. C. G. **Prevalência de doença periodontal em gestantes e sua associação com parto prematuro e baixo peso ao nascer em maternidades públicas de Manaus**. 2011. 127f. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba.

SMALLEY, J. W. et al. The HA2 haemagglutinin domain of the lysine-specific gingipain (Kgp) of *Porphyromonas gingivalis* promotes micro-oxo bishaem formation from monomeric iron (III) protoporphyrin IX. **Microbiology**. v. 152, p. 1839-1845, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOLOGIA – SBM. **Estatísticas sobre câncer de mama no Brasil. Disponível em:** <<http://www.sbmastologia.com.br/index/index.php/rastreamento-e-diagnostico/60-estatisticas-sobre-cancer-de-mama-no-brasil>> Acesso em: 01 de novembro de 2015

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. **Periodontol 2000**, v.28, n.1, p.12-55, jan. 2002.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Periodontal microbial ecology. **Periodontology 2000**, v. 38, p. 135-187, 2005.

SOCRANSKY, S. S. et al. Checkboard DNA-DNA Hybridization. **Biotechniques**, v. 17, n. 4, p. 788-792, out. 1994.

SOCRANSKY, S.S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, v.25, n. 2, p.134-144, 1998.

SÖDER et al. Periodontal disease may associate with breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, v. 127, n. 2, p. 497-502, jun. 2011.

SÖDER, B. et al. The association of dental plaque with cancer mortality in Sweden. A longitudinal study. **BMJ Open**, v. 2, n. 3, jun. 2012.

SOUZA, R. D.; ANDRADE, K. K.; OLIVEIRA, L. R. Envolvimento sistêmico da doença periodontal – Quais as consequências? **Rev Univ Vale Rio Verde**, v. 10, n. 1, p. 86-94, 2012.

TAHARA, T. et al. *Fusobacterium* in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma. **Cancer Res**, v. 74, n. 5, p. 1311-1318, 2014.

TANWIR, F; SADIA; SHAUKAT, D. Relationship between periodontal disease, tooth loss and cancer. **Pakistan Oral Dent J**, v. 32, n. 1, p. 62-65, abr. 2012.

TEIXEIRA, S. R. L. Análise da variabilidade de sistema de regulação de dois componentes FimSR e expressão de operon fimA em *Porphyromonas gingivalis*. 2013. 94f. Tese. (Doutorado em Ciências) – Pós-graduação em microbiologia, Universidade de São Paulo. São Paulo.

TEZAL, M. et al. Chronic Periodontitis and the incidence of head and neck squamous cell carcinoma. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 18, n. 9, p. 2406-2412, 2009.

THULER, L. C. Considerações sobre a prevenção do cancer de mama. **Rev Bras Cancerol**, v. 49, n. 4, p. 227-238, 2003.

TREVIZANI FILHO, E.; SANI NETO, J. **Manual de Periodontia**. Editora Atheneu. 2002, 74p. São Paulo.

TOTARO, M. C. et al. *Porphyromonas gingivalis* and the pathogenesis of rheumatoid arthritis: analysis of various compartments including the synovial tissue. **Arthritis Res Ther**, v. 15, n. R66, 2013.

VIEIRA, C. L. Z. **Relação entre doenças periodontais e aterosclerose subclínica em indivíduos com hipercolesterolemia familiar**. 2008. 137f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, São Paulo.

VILLAFUERTE, K. R. V. **Avaliação das condições periodontais em mulheres portadoras de câncer de mama sob tratamento quimioterápico**. 2014. 96f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

WHITMORE, S. E.; LAMONT, R. J. Oral bacteria and cancer. **PLOS Pathogen**, v. 10, n. 3, mar. 2014.

WINKELHOFF, A. J. van et al. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. **J. Clin. Periodontol.** v. 29, p. 1023-1028, 2002.

YOSHIMURA, F. et al. Surface components of *Porphyromonas gingivalis*. **J. Periodont. Res.** v. 44, n. 1, p. 1-12, 2009.

# APÊNDICES

## APÊNDICE 1 – EXAME CLÍNICO PERIODONTAL (PERIODONTOGRAMA)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**Centro de Ciências da Saúde**  
**Departamento de Clínica Odontológica**  
**Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica**  
**NUPET – Núcleo de Periodontia**

<b>PERIODONTOGRAMA</b>		NOME: _____																		
		IDADE: _____ DATA: _____																		
		18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28			
		VESTIBULAR																		
IPV	BSG																			
PS	NCI																			
SS	SUP																			
F	M																			
		PALATINA																		
IPV	BSG																			
PS	NCI																			
SS	SUP																			
F	M																			
		VESTIBULAR																		
IPV	BSG																			
PS	NCI																			
SS	SUP																			
F	M																			
		LINGUAL																		
IPV	BSG																			
PS	NCI																			
SS	SUP																			
F	M																			
		48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38			

Ass. do participante/ paciente \_\_\_\_\_ Ass. do aluno \_\_\_\_\_

Ass. Do pesquisador/ professor \_\_\_\_\_

**LEGENDA:**  
 IPV - ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL (0 - sem placa ou 1 - com placa)  
 ISG - ÍNDICE DE SANGRAMENTO GENGIVAL (0 - sem sangramento ou 1 - com sangramento)  
 PS - PROFUNDIDADE DE SONDAGEM (mm)  
 NCI - NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO (mm)  
 SS - SANGRAMENTO A SONDAÇÃO (0 - não sangrou) ou (1 - sangrou - marcar com caneta vermelha)  
 SUP - SUPURAÇÃO (0 - não supurou) ou (1 - supurou - marcar com caneta vermelha)  
 F - FURCA (nada, I, II ou III)  
 M - MOBILIDADE (nada, I, II ou III)

## APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO ANAMNÉSICO MÉDICO-ODONTOLÓGICO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**Centro de Ciências da Saúde**  
**Departamento de Clínica Odontológica**  
**Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica**  
**NUPET – Núcleo de Periodontia**

### QUESTIONÁRIO ANAMNÉSICO MÉDICO-ODONTOLÓGICO PARA CÂNCER DE MAMA

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

#### Dados pessoais:

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Estado civil: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ N° \_\_\_\_\_

Compl. \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Município: \_\_\_\_\_ UF: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

#### Hábitos de Vida:

##### Tabagista:

sim  somente no passado  não

Se sim ou somente no passado, quantos por dia: \_\_\_\_\_

Idade que começou a fumar: \_\_\_\_\_ Idade que parou: \_\_\_\_\_

##### Etilista:

sim  somente no passado  não

Se sim ou somente no passado, Tipo de bebida: \_\_\_\_\_

quantos dias por semana: \_\_\_\_\_

quantidade de garrafas, latas ou doses aproximadamente: \_\_\_\_\_

Há quantos anos parou de beber: \_\_\_\_\_

##### Doenças já diagnosticadas:

Hipertensão  sim  não diabetes  sim  não depressão  sim  não

Ansiedade  sim  não cardiopatias  sim  não Especificar: \_\_\_\_\_

Neoplasias  sim  não Especificar: \_\_\_\_\_

Outra(s) \_\_\_\_\_

Medicações  sim  não

Descrever: \_\_\_\_\_

#### Histórico da doença atual

Data de diagnóstico: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**Protocolo Terapêutico:**Esvaziamento Linfático:  sim  nãoQuimioterapia:  sim  não

Tipo: \_\_\_\_\_ n° de ciclos: \_\_\_\_\_

Início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ término: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Quimioterápico(s): \_\_\_\_\_

Radioterapia:  sim  não

Início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ término: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

N° de sessões: \_\_\_\_\_

Hormonioterapia com Tamoxifeno:  sim  não

Início: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ término: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Histórico Odontológico:**Já visitou o Dentista alguma vez?  sim  não

Se sim, com que frequência? \_\_\_\_\_ -

Já fez tratamento de gengiva alguma vez?  sim  não

Se sim, há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Possui alergia a alguma substância?  sim  não

Se sim, qual(quais)? \_\_\_\_\_

## ANEXOS

### ANEXO A - CARTA DE ACEITE DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO DE MORAES – HUCAM



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
Centro de Ciências da Saúde  
Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes - HUCAM

Vitória-ES, 22 de maio de 2014.

De: Prof.Dr.Luiz Alberto Sobral Jr.  
Diretor-Superintendente do HUCAM

Para: Prof.Dr.Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa  
Associado Periodontia/DCO-CCS-UFES

#### CARTA DE ACEITE

Informo a quem de direito que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITOS DAS TERAPIAS ANTIN-NEOPLÁSICAS DO CÂNCER DE MAMA SOBRE CONDIÇÕES CLÍNICAS PERIODONTAIS, NÍVEL ÓSSEO ALVEOLAR, MICROBIOTA SUBGENGIVAL E RESPOSTA INFLAMATÓRIA" sob Coordenação Geral do Prof.Dr.Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, lotado no Departamento de Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo foi aceito para realizar tal investigação junto ao Serviço de Mastologia do HUCAM visando atender o CEP/CCS-UFES Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Prof. Luiz Alberto Sobral V. Júnior  
Superintendente EBSEPH  
HUCAM / UFES

  
Prof.Dr. Luiz Alberto Sobral Vieira Jr.  
Diretor do HUCAM

## ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_, (nacionalidade) \_\_\_\_\_ residente e domiciliado à Rua \_\_\_\_\_, telefone \_\_\_\_\_, na cidade de \_\_\_\_\_, Estado de \_\_\_\_\_, fui convidada a participar da pesquisa intitulada: **EFEITOS DAS TERAPIAS ANTI-NEOPLÁSICAS DO CÂNCER DE MAMA SOBRE PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS, MICROBIOTA SUBGENGIVAL, NÍVEL ÓSSEO ALVEOLAR E RESPOSTA INFLAMATÓRIA**, sob responsabilidade de Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa.

1. **Justificativa:** A periodontite é a inflamação das gengivas e pode levar até a perda dos dentes. É causada pela presença da placa dentária, uma camada composta por bactérias localizada na superfície dos dentes (coroas dentárias ou raízes dentárias) que causam esta inflamação. A inflamação da gengiva é influenciada pela resposta imune do hospedeiro por meio de moléculas chamadas de citocinas. As citocinas que atuam nas doenças da gengiva são encontradas no fluido gengival e as principais são: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e TNF $\alpha$ . Deste modo, uma resposta imune pronta para a infecção periodontal crônica tem sido proposta como um potencial fator etiológico carcinogênico. Estudos apontam que as mudanças das bactérias da boca frente aos anti-neoplásicos são inadequadas e pouco compreendidas até o presente, mas, durante a quimioterapia existe uma alteração no aumento de bactérias bastonetes gram-negativas em até 50% dos pacientes.
2. **Objetivo da Pesquisa:** O objetivo desta pesquisa é avaliar a presença de inflamação na gengiva, das bactérias da gengiva inflamada e a presença de substâncias responsáveis por essa inflamação gengival.
3. **Procedimentos:** Para participar desse estudo o indivíduo voluntário não pode ser fumante, deve ter a periodontite crônica ou agressiva, não ter sofrido tratamento nas gengivas, nem tomado antibióticos ou utilizado bochechos com antissépticos nos últimos 6 meses; e não estar grávida. Os participantes voluntários serão submetidos a exames completos dos dentes e das gengivas durante o período do estudo. Os atendimentos serão realizados no Ambulatório II do Instituto de Odontologia por profissionais formados em Odontologia sob a supervisão dos professores de Periodontia do Departamento de Clínica Odontológica da UFES. Os exames clínicos periodontais, questionário anamnésico odontológico e odontograma serão realizados em todas as pacientes selecionadas no projeto. As coroas dos dentes receberão profilaxia periodontal por meio da raspagem das superfícies dentárias e das coroas dentárias sem anestesia local para remover a placa dental para evitar contaminação no momento da coleta da placa dental subgengival. Espécimes de placa dentária serão coletados com curetas metálicas e o fluido gengival será coletado por meio de cones de papel esterilizados para a realização do exame das bactérias e das moléculas (citocinas) da inflamação gengival. Logo após as coletas, todos os dentes receberão raspagem e alisamento radicular manual e/ou com ultrassom, polimento das coroas dentárias, aplicação tópica de fluoreto de sódio (1,23%), orientação de higiene oral e uso de soluções para bochechos que ajudam no controle dos germes da boca para evitar a formação da placa dentária causadora das inflamações nas gengivas. Os espécimes de placa dental subgengival e do fluido gengival ano serão armazenados em freezer com temperatura de -80°C em ambiente de sala fria do Núcleo de Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Estes espécimes serão utilizados somente e tão somente para esta pesquisa e ao final do período de realização da pesquisa, os espécimes residuais ou remanescentes serão descartados por meio de esterilização em autoclave. A consulta odontológica neste estudo terá uma duração de aproximadamente 40 minutos. Os indivíduos que necessitarem de outros tratamentos serão encaminhados às diferentes especialidades nas Clínicas do Instituto de Odontologia.
4. **Duração e Local da Pesquisa:** Os atendimentos serão realizados no Ambulatório II do IOUFES sob a orientação dos Professores de Periodontia (Gengiva) da UFES durante o período do estudo.
5. **Riscos, Desconfortos e Benefícios:** Existem riscos mínimos durante a realização do exame da gengiva e dos dentes, tais como, um leve desconforto durante o ato de introdução da sonda periodontal metálica ou da cureta dentro da bolsa periodontal, e leve dor ao toque da sonda exploradora metálica para a verificação de cárie. Estes procedimentos são simples, na maioria das vezes, indolores, uma vez que são de rotina na prática médica odontológica. As coletas da placa dental para análise das bactérias e do fluido gengival são feitas por meio de curetas e cones de papel esterilizados dentro da bolsa periodontal mantidos por 60 segundos e são indolores. O risco é sangramento da gengiva após a introdução dos cones durante segundos. Caso haja sensibilidade dolorosa acentuada, a alternativa clínica é o uso da anestesia local apropriada da região. Nos casos clínicos de maior complexidade, o paciente receberá o tratamento por fase, ou seja, com intervalos maiores entre os procedimentos clínicos e a nova consulta odontológica.
6. **Acompanhamento e Assistência:** Todos os que receberem tratamentos nas gengivas serão posteriormente acompanhados na Clínica de Periodontia para permanecerem no programa de manutenção ou de suporte do controle de placa dental para evitar efeitos e condições adversas oriundas do não controle adequado de higiene bucal ou ainda, se por ventura, de algum dano reversível durante a realização do ato operatório não cirúrgico. O participante que apresentar algum dano comprovadamente inspecionado pela equipe de pesquisadores terá garantia da realização de procedimentos gengivais visando restabelecer a condição de saúde clínica gengival e será mantido em programa de revisão na Clínica de Periodontia da UFES.
7. **Direito de Recusa em participar da Pesquisa:** A participação na pesquisa não é obrigatória e caso algum dos participantes selecionados se recuse em participar, isso não resultará em nenhum tipo de penalidade ou prejuízo para os mesmos, podendo a qualquer momento se retirar da pesquisa. Todos os voluntários participantes da pesquisa receberão uma via (cópia) do termo de consentimento livre e esclarecido.
8. **Garantia de Manutenção do Sigilo e Privacidade:** Nenhum resultado será relatado com identificação pessoal do participante. Todos os cuidados serão tomados para manutenção do sigilo de sua identidade. Ao conceder o direito de

retenção e uso de quaisquer documentos para fins de ensino e divulgação (dentro das normas vigentes) em jornais e revistas científicas do país e estrangeiras, será mantida a devida preservação do segredo profissional, a menos que a quebra seja por uma exigência judicial.

**9. Ressarcimento Financeiro:** Nenhuma ajuda financeira será concedida aos participantes, pela Instituição ou pela equipe de pesquisadores, relativa à participação na pesquisa, uma vez que nesta pesquisa não há recebimento financeiro de nenhum órgão ou entidade para pagar a participação de cada voluntário na pesquisa.

**10. Esclarecimento de Dúvidas:** Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou perante a necessidade de reportar qualquer injúria ou dano relacionado com o estudo, eu devo contatar o pesquisador Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, nos telefones (27) 3335-7273/3335-7276/3335-7237 ou (27) 9999-4793 ou no endereço: Av. Marechal Campos, 1468 - Maruípe, Vitória-ES. Caso não consiga contatar o pesquisador ou para relatar algum problema, posso contatar o Comitê de Ética e Pesquisa do CCS/UFES pelo telefone (27) 3335-7211 ou correio, através do seguinte endereço: Universidade Federal do Espírito Santo, Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe, Prédio da Administração do CCS, CEP: 29040-090, Vitória-ES, Brasil.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o teor do presente documento entendendo todos os termos acima expostos, como também, os meus direitos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo pesquisador.

Na qualidade de pesquisador responsável pela pesquisa **EFEITOS DAS TERAPIAS ANTI-NEOPLÁSICAS DO CÂNCER DE MAMA SOBRE PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS, MICROBIOTA SUBGENGIVAL, NÍVEL ÓSSEO ALVEOLAR E RESPOSTA INFLAMATÓRIA**, Eu, Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, declaro ter cumprido as exigências da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretriz e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

VITÓRIA-ES, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_.

---

Voluntário Participante da Pesquisa

---

Nome do Pesquisador Responsável pelo Projeto

## ANEXO C - APROVAÇÃO PELO CEP/CCS-UFES/PLATAFORMA BRASIL

CENTRO DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE/UFES



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFEITO DE TERAPIAS ANTI-NEOPLÁSICAS DO CANCER DE MAMA SOBRE A DOENÇA PERIODONTAL.

**Pesquisador:** ALFREDO CARLOS RODRIGUES FEITOSA

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 21597313.2.0000.5060

**Instituição Proponente:** Centro de Ciências da Saúde

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 862.952

**Data da Relatoria:** 25/11/2014

#### Apresentação do Projeto:

Estudo epidemiológico com desenho observacional descritivo. Esta pesquisa possui um delineamentos epidemiológico e terapêutico periodontal.

#### Objetivo da Pesquisa:

Avaliar parâmetros clínicos, radiográficos, microbiológicos e imunológicos dos efeitos das terapias antineoplásicas sobre as condições clínicas da doença periodontal em pacientes com câncer de mama.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Existem riscos mínimos durante a realização do exame da gengiva e dos dentes, tais como, um leve desconforto durante o ato de introdução da sonda periodontal metálica ou da cureta dentro da bolsa periodontal, e leve dor ao toque da sonda exploradora metálica para a verificação de cárie. Estes procedimentos são simples, na maioria das vezes, indolores, uma vez que são de rotina na prática médica odontológica. As coletas da placa dental para análise das bactérias e do fluido gengival são feitas por meio de curetas e cones de papel esterilizados dentro da bolsa periodontal mantidos por 60 segundos e são indolores. O risco é sangramento da gengiva após a introdução dos cones durante segundos. Caso haja sensibilidade dolorosa acentuada, a alternativa clínica é o

**Endereço:** Av. Marechal Campos 1458

**Bairro:** S/N

**CEP:** 29.040-091

**UF:** ES

**Município:** VITORIA

**Telefone:** (27)3335-7211

**E-mail:** cep@ccs.ufes.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE/UFES**



Continuação do Parecer: 862.952

uso da anestesia local apropriada da região. Nos casos clínicos de maior complexidade, o paciente receberá o tratamento por fase, ou seja, com intervalos maiores entre os procedimentos clínicos e a nova consulta odontológica.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Este estudo tem por finalidade conhecer os possíveis patógenos periodontais, a natureza da inflamação, por meio da identificação de citocinas anti-inflamatórias, e avaliar a resposta do hospedeiro frente às terapêuticas periodontais adotadas no sentido de eliminar as inflamações periodontais ou pelo menos reduzir a carga bacteriana presente nas bolsas periodontais das pacientes com câncer de mama.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O regulamento do biorrepositório foi aprovado pelo departamento de Clínica Odontológica, de acordo com o extrato de ata apresentado.

Riscos detalhados na Plataforma Brasil.

Participação apenas do Hospital HUCAM na pesquisa constando na Plataforma Brasil

**Recomendações:**

Sem

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Cronograma adequado com datas após aprovação pelo Comitê de Ética.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Telefone: (27)3335-7211

Município: VITORIA

CEP: 29.040-091

E-mail: cep@ccs.ufes.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE/UFES



Continuação do Parecer: 862.952

VITÓRIA, 07 de Novembro de 2014

---

Assinado por:  
Cynthia Furst Leroy Gomes Bueloni  
(Coordenador)

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES Município: VITÓRIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep@ccs.ufes.br