

Efectos del tratamiento periodontal sobre los marcadores de inflamación sistémica en pacientes con riesgo de enfermedad cardiaca coronaria. Estudio piloto

Néstor J López^{1a}, Antonio Quintero^{2a},
Marcelo Llancaqueo³, Lilian Jara^{4b}.

Effects of periodontal therapy on markers of systemic inflammation in patients with coronary heart disease risk

Background: Studies investigating effects of periodontal treatment (PT) on markers of inflammation in healthy subjects show conflicting results. Few studies have investigated the effects of PT among subjects with coronary heart disease (CHD) risk factors. **Aim:** To report the results of a pilot prospective study on the effects of periodontal treatment on markers of inflammation among subjects with CHD risk factors. **Material and methods:** Seventy three patients aged 53±6 years (25% males) with chronic periodontitis, dyslipidemia and other CHD risk factors were subjected to PT consisting on root planning and oral metronidazol and amoxicillin for 7 days. Periodontal clinical parameters, serum C-reactive protein (CRP), fibrinogen levels and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were assessed before and at 6 weeks after PT. Polymorphisms at the IL1A-889 and IL1B+3954 genes were also genotyped. **Results:** After the treatment period, CRP levels significantly increased from 3.6±3.7 mg/L to 5.4±5.7 mg/L ($p=0.001$). No significant changes were observed in fibrinogen levels and ESR. Higher post-treatment CRP levels were significantly associated with the composite polymorphic genotype at the IL1A-889 and IL1B+3954 genes ($p=0.0001$), and extensive periodontitis ($p=0.005$). Moderate alcohol consumption appeared as a protective factor for CRP elevation ($p=0.029$). **Conclusions:** The increase of the CRP levels after PT in patients with CVD risk factors appeared associated with IL-1 gene polymorphisms and extensive periodontitis (Rev Méd Chile 2009; 137: 1315-22).

(Key words: Chronic periodontitis; Coronary artery disease; Risk factors)

Recibido el 7 de enero, 2009. Aceptado el 1 de septiembre, 2009.

Trabajo financiado por la Universidad de Chile, DI, ENL 05/7 y proyecto FONDECYT #1061070.

¹Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Santiago, Chile. ²Área de Periodoncia e Implantología, Facultad de Odontología, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes. ³Centro Cardiovascular, Hospital Clínico José Joaquín Aguirre, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁴Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

^aCirujano-Dentista

^bDoctora en Biología

Correspondencia a: Néstor J. López. José Antonio Soffia
2747, Of. 603, Providencia. Fax: 3345768.
E mail: nlopez@interactiva.cl

La enfermedad periodontal (EP) es un grupo de enfermedades inflamatorias crónicas del periodoncio causadas principalmente por bacterias anaerobias Gram (-) que afecta a 48% de los mayores de 35 años de Santiago¹. La infección provoca inflamación crónica que destruye los tejidos de soporte del diente causando su pérdida. La característica clínica-anatomopatológica de la EP es la formación de sacos periodontales alrededor de los dientes. La pared gingival del saco presenta ulceraciones que exponen el tejido conectivo al contenido séptico del saco y la carga bacteriana contra el epitelio ulcerado puede exceder 10^{10} de bacterias. Como consecuencia de esto, las bacteremias y endotoxemias son frecuentes durante la masticación o el cepillado de dientes.

En la EP severa la inflamación sostenida es producida por desregulación de la respuesta inmune local con hipersecreción de citoquinas IL-1, IL-6, IL-8 y prostaglandina E_2 ², y está asociada a polimorfismos genéticos que regulan la respuesta inflamatoria³.

Infecciones de baja intensidad, por su respuesta de fase aguda, pueden acelerar la formación de ateromas con el consiguiente aumento del riesgo cardiovascular⁴. La EP está asociada con aumento del riesgo de eventos ateroscleróticos⁵ y la respuesta inflamatoria sistémica (RIS) puede ser un mecanismo de relación entre EP y enfermedad CV⁶. En la EP hay un aumento moderado de niveles de marcadores de inflamación sistémica (MIS), como proteína C-reactiva (PCR) y fibrinógeno, comparados con sujetos sin EP^{7,8}, por lo que estos marcadores podrían ser factores de asociación entre EP y riesgo CV⁸.

Los MIS son marcadores de eventos cardiovasculares en sujetos con y sin antecedentes de enfermedad coronaria⁹, y la recurrencia de ellos está asociada con niveles altos de fibrinógeno¹⁰ y PCR¹¹, y su aumento es un buen predictor de mortalidad CV¹¹.

El efecto del tratamiento periodontal (TP) en la RIS es controversial¹²⁻¹⁵. Un metaanálisis¹⁶ no encontró disminución de PCR post-TP y el TP intenso en sujetos sin riesgo CV aumenta la RIS con alteración de la función endotelial y del sistema hemostático¹⁷. Los efectos del TP en la RIS se han estudiado en sujetos sin riesgo CV, y en sólo un estudio en individuos con riesgo CV¹⁸.

La RIS muestra alta variabilidad por patrones individuales de secreción de las citoquinas involu-

cradas, asociados con polimorfismos genéticos que regulan la producción de IL-1^{19,20}, y que también están asociados con EP³, infarto agudo del miocardio, accidente isquémico cerebrovascular^{21,22}, y con niveles altos de PCR y fibrinógeno²³.

Investigamos si la eliminación de la EP está asociada con cambios en los MIS en sujetos con riesgo CV, y su relación con polimorfismos de IL-1A-899, e IL-1B+3954. La hipótesis propuesta fue que la RIS post-TP en sujetos con riesgo CV es heterogénea y depende de factores que se propone identificar en este estudio piloto para la factibilidad de un posterior estudio aleatorio controlado.

MATERIAL Y MÉTODO

Medimos los niveles de PCR, fibrinógeno, velocidad de sedimentación (VHS) y parámetros clínicos de EP antes y 6 semanas post-TP para compararlos con estudios similares¹²⁻¹⁴. Seleccionamos estos MIS porque están asociados con riesgo CV²³.

Participantes del estudio. Seleccionamos pacientes del programa de prevención de ECV del Consultorio Carol Urzúa de Peñalolén, Santiago, Chile. El programa incluía: examen físico, medición de presión arterial, evaluación nutricional, medición del índice de masa corporal (IMC), análisis de sangre y orina. Según el estado de los pacientes, éstos recibían orientación nutricional, medicación antihipertensiva, hipoglicemiantes y consejería para dejar el tabaquismo.

Criterios de inclusión. Edad >40 años, colesterol total >200 mg/dL, >14 dientes presentes y EP. El criterio para diagnosticar EP fue ≥ 4 dientes con ≥ 1 sitios con profundidad al sondaje (PS) ≥ 4 mm y concomitante pérdida de inserción clínica (PIC) ≥ 3 mm.

Criterios de exclusión. Historia de eventos CV, artritis reumatoidea, historia de TP, terapia de reemplazo hormonal, presencia de otras infecciones intercurrentes, uso de antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos o hipolipemiantes en los 6 meses previos al estudio.

Examinamos 120 sujetos y seleccionamos 80, pero sólo 73 aceptaron participar. El protocolo fue

aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, y cada participante firmó un consentimiento informado.

Examen bucal. Un examinador calibrado efectuó exámenes clínicos bucales al inicio del estudio y 6 semanas post-TP. En todos los pacientes se midió: índice de higiene oral por el porcentaje de superficies con placa, PS, PIC y sangrado gingival en 6 sitios por cada diente presente. Estas características miden la severidad, extensión e inflamación gingival de la EP. Se confeccionó una historia médica personal y familiar, y se identificaron y registraron los factores de riesgo CV.

Se diagnosticó hipertensión arterial si la presión sistólica era ≥ 140 mm Hg y la diastólica ≥ 90 mm Hg en 2 ocasiones, o si recibía terapia antihipertensiva²⁴. Eran fumadores los que habían fumado ≥ 100 cigarrillos en su vida y aún fumaban, y no fumadores los que jamás lo habían hecho o los que habían fumado ≤ 100 cigarrillos en su vida, y no fuman en la actualidad²⁵. El consumo de alcohol se midió por el número de vasos de vino semanales.

Marcadores de inflamación sistémica. Los niveles de PCR, fibrinógeno y VHS se midieron en sangre extraída entre las 08:00 y 10:00 AM, después de ≥ 8 horas de ayuno. Antes de tomar las muestras se aplicó un cuestionario para identificar otras patologías que pudieran afectar los niveles de los MIS.

La PCR se midió con la técnica de inmunoturbidometría automatizada de alta sensibilidad (Cobas Integra, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania, límite de detección 0,425 mg/L). El fibrinógeno se midió por el método de Clauss y la VHS por procedimientos usuales de laboratorio clínico. Los análisis clínicos fueron realizados ciegos en un mismo laboratorio.

Obtención del ADN y genotipificación. El ADN se extrajo de leucocitos de sangre periférica usando soluciones de purificación de ADN (Lyses Buffer and Chomczynski solution, Winkler Ltda, Santiago, Chile). El ADN se amplificó por la reacción en cadena de la polimerasa. La genotipificación para IL1A-889 C>T (SNP Genbank número de acceso rs1800587) y para IL-1B +3954 C>T (SNP GenBank número de acceso rs16944) fue realizada como está descrita³. Los productos obtenidos fueron digeridos con *TaqI* enzima de restricción y analizados en geles de agarosa¹⁹.

El primer alelo designado para cada polimorfismo es el más común y es denominado "1" (IL1A-889C o IL-1B+3954C), y el menos común es denominado "2" (IL-1A889T o IL-1B+3954T). Para determinar la validez del método, 20 muestras se genotipificaron 2 veces con resultados idénticos.

Tratamiento periodontal. Se aplicó TP estándar que consistió en instrucciones de higiene bucal, destartraje supra y subgingival y raspado radicular, usando instrumentos ultrasónicos y manuales, bajo anestesia local, por cuadrantes de cada maxilar, en cada sesión. El tratamiento demoró 4 a 6 h dependiendo del número de dientes. A los pacientes se les proveyó de cepillos y dentífrico. Se administraron metronidazol (250 mg) y amoxicilina (500 mg) (M+A) cada 8 h, por 7 días, a los pacientes con diabetes, con EP extensa, o con inflamación gingival severa. No se indicó uso de enjuagatorios bucales.

Estadística. El cálculo de la muestra se basó en estudios en pacientes sin riesgo CV que encontraron variaciones de ± 1 mg/L de PCR, 6 semanas post-TP¹²⁻¹⁴. Se propuso que el promedio de PCR post-TP variaría $\pm 1,5$ mg/L con desviación estándar (DE) $\pm 0,5$. Calculamos una muestra de 70 sujetos con poder estadístico de 80% para detectar diferencias entre los promedios de PCR de 1,85 con un valor $p \leq 0,05$.

Los valores de MIS y de características periodontales se expresaron en promedios \pm DE. Los valores de los MIS no tenían distribución normal y se transformaron logarítmicamente para el análisis. Las diferencias de las variables continuas se analizaron con el test t de Student, y de las variables categóricas con Chi-cuadrado. Para correlacionar las variables, previo al análisis de regresión lineal, se usó el coeficiente de Pearson. Un valor de $p \leq 0,05$ se consideró significativo. Para el análisis se usó el programa SAS (versión 8.2, SAS Institute, Cary, NC, USA).

RESULTADOS

Los 73 participantes completaron el estudio. La Tabla 1 muestra las características de los pacientes. No hubo cambios en el estilo de vida, incluyendo ejercicio físico, tabaco, alcohol, dieta, IMC o en la

Tabla 1. Características clínicas (n =73)

Característica		
Promedio de edad (años)	53,47 ± 6,47	
Colesterol total (mg/dL),	238 ± 29	
	n	%
Hombres	18	24,65
Diabetes mellitus	14	19,17
Obesidad (IMC >30 kg/m ²)	32	43,83
Hipertensión arterial	51	69,86
Fumadores	36	49,31
Uso de aspirina (100 mg/¿día?)	47	64,38
Uso de alcohol (<30 g/semana)	21	28,76

Los valores están expresados en promedio ± desviación estándar.

medicación. Cuarenta y cuatro por ciento de los pacientes eran obesos (IMC >30), 19% tenía diabetes tipo 2, 70% tenía hipertensión arterial y todos recibían antihipertensivos. El 65% de los diabéticos no tenía control metabólico adecuado (hemoglobina glicosilada >8%), aunque usaban hipoglicemiantes. Los sujetos que consumían alcohol tomaban <30 g semanales. La mayoría de los fumadores fumaba ≤5 cigarrillos/día. Cincuenta y un pacientes recibieron M+A con el TP.

La frecuencia de heterocigotos u homocigotos para el alelo 2 en IL-1A-889 fue 50,68%, y para IL-1B+3954 fue 42,46%. La frecuencia de polimorfismo del genotipo compuesto (al menos un alelo 2) en IL-1A-889 y IL-1B+3954 fue 35,61%.

Todos los sujetos tenían pobre higiene oral y EP moderada a severa (>50% de sitios con PIC ≥3 mm). El promedio de sitios con sangrado gingival (47% ± 20,4%) muestra inflamación generalizada (Tabla 2).

Todas las características periodontales mejoraron significativamente post-TP (p =0,001), demostrando que el tratamiento fue efectivo para reducir la inflamación a niveles compatibles con salud periodontal (Tabla 2).

En pacientes con periodontitis generalizada (>50% de sitios con PS ≥4 mm) los niveles de PCR mostraron correlación positiva con PS (r =0,37, p =0,001), con el porcentaje de sitios con sangrado gingival (r =0,28, p =0,013) y con el porcentaje de los sitios con PS ≥4 mm (r =0,40, p =0,004). Antes del TP

la mediana de PCR fue 2 mg/L (rango intercuartil 2 a 4) y post-TP aumentó a 4 mg/L (rango intercuartil 4 a 7). El promedio de PCR se elevó significativamente de 3,56 ± 3,67 mg/L antes del TP a 5,36 ± 5,68 mg/L post-TP (p =0,001). El fibrinógeno y la VHS aumentaron no significativamente (Tabla 2). El porcentaje de pacientes con PCR ≥3 mg/L aumentó de 37% pre-TP a 55% post-TP (p =0,044).

El aumento de PCR post-TP estaba asociado a obesidad (p =0,008), diabetes (p =0,007), periodontitis generalizada (p =0,008) y polimorfismo compuesto (p =0,026) (Tabla 3). El aumento del fibrinógeno estaba asociado con periodontitis generalizada (p =0,035), diabetes (p =0,042) y obesidad (p =0,035) (Tabla 3). El uso de antibióticos no mostró relación con los MIS. Los pacientes con aumento de PCR tenían mayor frecuencia de polimorfismos de IL-1A-889 e IL-1B+3954 (Tabla 4).

El análisis de regresión lineal mostró que el aumento de PCR post-TP estaba significativamente asociado con polimorfismo del genotipo compuesto (p =0,001) y periodontitis generalizada (p =0,005). El consumo de alcohol (p =0,029) fue factor protector para el incremento de PCR (Tabla 5).

DISCUSIÓN

El objetivo del estudio fue explorar el efecto del TP sobre la RIS e identificar las variables asociadas a ese efecto. Hubo heterogeneidad de la RIS post-TP

Tabla 2. Características periodontales y marcadores de inflamación sistémica pre y postratamiento periodontal (t-test no pareado)

	Pretratamiento	Postratamiento	Valor p
Nº dientes presentes	18,80 ± 3,52	18,80 ± 3,52	NS
Profundidad al sondaje	2,98 ± 0,67	2,17 ± 0,39	0,001
Pérdida de inserción	3,61 ± 1,56	2,98 ± 1,18	0,001
% de sitios con:			
Sangrado gingival	47 ± 20,4	20 ± 9,3	0,001
Profundidad al sondaje ≥4 mm	27,25 ± 20,34	6 ± 8,7	0,001
Pérdida de inserción ≥3 mm	64,50 ± 26,74	54,23 ± 26,2	0,001
Placa dental	90 ± 9,5	48 ± 21,5	0,001
PCR (mg/L)	3,56 ± 3,67	5,36 ± 5,68	0,001
Fibrinógeno (mg/dL)	350 ± 89	354 ± 83	0,55
Velocidad de eritrosedimentación (mm/h)	16 ± 11,28	18,8 ± 18,29	0,063

Los valores están expresados en promedio ± desviación estándar.

Tabla 3. Características asociadas a altos niveles de PCR y fibrinógeno post-TP (test-t no pareado)

Característica		n	PCR (mg/L)	Valor p
Obesidad (IMC ≥30)	Sí	32	7,58 ± 7,65	0,008
	No	41	3,63 ± 2,40	
Diabetes	Sí	14	9,01 ± 8,56	0,007
	No	59	4,49 ± 4,44	
Periodontitis generalizada	Sí	28	7,56 ± 7,51	0,008
	No	45	4,00 ± 3,65	
Polimorfismo de IL1A-889 e IL1B+3954	Sí	26	7,34 ± 8,14	0,026
	No	47	4,27 ± 3,33	
Fibrinógeno (mg/dL)				
Periodontitis generalizada	Sí	28	380 ± 79	0,035
	No	45	338 ± 82	
Diabetes	Sí	14	394 ± 74	0,042
	No	59	344 ± 82	
Obesidad (IMC >30)	Sí	32	378 ± 88	0,035
	No	41	336 ± 75	

Los valores están expresados en promedio ± desviación estándar.

medida por los niveles de PCR. El promedio de PCR aumentó significativamente post-TP debido a que en 57% de los pacientes este marcador aumentó, pero en algunos la PCR se mantuvo y en otros descendió. La mayoría de nuestros pacientes tenía niveles altos de

PCR antes del TP debido a que, además de la EP, tenían hipercolesterolemia y a lo menos otro factor de riesgo CV, como obesidad, diabetes, hipertensión arterial o tabaquismo, todos asociados con aumento de PCR. Valores de PCR >3 mg/L indican mayor

Tabla 4. Distribución de homocigotos y heterocigotos para el alelo 2 en sujetos con aumento y con disminución de niveles de PCR postratamiento (test χ^2)

Homocigoto o heterocigoto para alelo 2	Aumento de PCR n =43		Disminución de PCR n =30		Valor p
	n	%	n	%	
IL-1A -899	24	55,81	13	43,33	0,41
IL-1B +3.954	21	48,83	10	33,32	0,28
Genotipo compuesto	19	44,18	7	23,33	0,11

Tabla 5. Modelo de regresión lineal para las variables significativamente asociadas a niveles altos de PCR postratamiento periodontal. Variable dependiente: nivel de PCR postratamiento

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		Valor p
	Beta	Error estándar	Beta	t	
Nivel de PCR postratamiento	1,037	0,106	0,679	9,814	0,0001
Consumo de alcohol	-2,024	0,906	-0,139	-2,235	0,029
Genotipo compuesto	3,213	0,844	0,246	3,805	0,0001
Periodontitis generalizada	2,467	0,854	0,196	2,888	0,005

riesgo de enfermedad coronaria²⁶, y mayor riesgo de eventos CV^{27,28}. El 37% de los pacientes tenía niveles de PCR >3 mg/L pre-TP y aumentó significativamente a 55%, post-TP (p =0,044). Seis semanas post-TP ninguna de las variables asociadas a niveles altos de PCR, con la sola excepción de la EP, se había modificado en nuestros pacientes. Se ha propuesto que la bacteriemia, el daño tisular producido por el TP y la ineficacia para eliminar la infección periodontal, explicarían el aumento de la RIS^{4,29}. El TP aplicado en nuestro estudio ha demostrado ser efectivo para eliminar la inflamación periodontal y el metronidazol y amoxicilina son el tratamiento antimicrobiano más efectivo para eliminar infecciones periodontales³⁰ y reducir la bacteriemia³¹. La significativa reducción de todas las características clínicas periodontales a niveles compatibles con salud periodontal demuestra que el tratamiento fue efectivo para eliminar la inflamación e infección periodontal.

La administración de antibióticos no mostró asociación con los niveles de PCR, lo que concuerda con otro estudio¹² en que no hubo disminución de PCR post-TP combinado con metronidazol. Esto

sugiere que la bacteriemia no fue un mecanismo importante involucrado en la RIS post-TP en nuestros pacientes. La explicación más probable del aumento de la RIS en algunos pacientes es el trauma tisular derivado del raspado radicular, lo que es congruente con la asociación entre niveles altos de PCR y periodontitis generalizada. Un mayor número de sitios afectados por periodontitis y tratados con raspado radicular involucra mayor extensión de la herida periodontal post-TP.

La heterogeneidad de la RIS al TP se puede explicar por la acción de otros factores individuales, además de la EP. El aumento de PCR post-TP estaba asociado con diabetes y obesidad, la que también estaba asociada con aumento de fibrinógeno y de VHS. Estos resultados son concordantes con que el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina y la diabetes, se asocian a niveles altos de MIS³².

El tabaquismo está asociado con aumento de PCR³³, relación que no estaba en nuestros pacientes, probablemente porque los fumadores fumaban <5 cigarrillos diarios. Tampoco hubo relación entre aspirina y PCR en nuestros pacientes porque ingerían

100 mg/día, dosis inferior a 300 mg/día, necesaria para reducir la PCR³⁴. El consumo moderado de alcohol fue un factor protector del incremento de PCR lo que concuerda con otros estudios³⁵.

Nuestros resultados coinciden con otros en que el TP aumenta la RIS en alta proporción de pacientes^{13,15,17,28}, pero están en desacuerdo con Tüter et al¹⁸ quienes encontraron disminución significativa de PCR en 36 pacientes con enfermedad coronaria 6 semanas post-TP. Las diferencias entre los dos estudios pueden deberse a que ellos usaron doxiciclina (20 mg por día) que tiene efectos antiinflamatorios, a que no incluyeron diabéticos ni fumadores, y a que sus pacientes tenían colesterolemia normal.

Se ha demostrado que los polimorfismos de IL-1A-889 e IL-1B+3954 están asociados con niveles aumentados de IL-1¹⁹, y mayor riesgo de EP³. La IL-1β interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria sistémica, lo que es congruente con la asociación entre estos polimorfismos y los niveles altos de PCR encontrados en nuestros pacientes. El polimorfismo de IL-1B+3954 aumenta el riesgo de infarto del miocardio y de accidente isquémico cerebral²¹, por lo que nuestros resultados concuerdan con la hipótesis de que ciertos polimorfismos que regulan la secreción de citoquinas proinflamatorias están asociados a mayor riesgo de ECV y de EP³⁶.

Hay limitaciones de este estudio que se deben explicitar. Seis semanas es insuficiente para demostrar mejoría de la RIS post-TP, pero se hizo el control a esa fecha para compararlos a estudios de igual duración. No se incluyó un grupo control sin TP por razones éticas, y el tamaño de la muestra es pequeño para determinar asociación genética consistente.

Es aconsejable realizar estudios con mayor número de pacientes y varios polimorfismos genéticos para identificar los factores involucrados en la RIS post-TP en sujetos con riesgo CV.

Para interpretar la RIS se debe tener presente, además de los factores conocidos, que la EP y el TP pueden aumentarla, por lo que se debería incluir un examen bucal para descartar EP, e investigar historia de TP reciente.

Agradecimientos

Agradecemos a Unilever Chile por la donación de dentífricos y cepillos dentales para los pacientes, y al Laboratorio Bestpharma Chile por la donación del metronidazol y amoxicilina usados en este estudio. Las organizaciones que financiaron este estudio no tuvieron injerencia en el diseño del estudio, en la recolección, análisis o interpretación de los datos, revisión o aprobación del manuscrito.

REFERENCIAS

- GAMONAL JA, LÓPEZ NJ, ARANDA W. Periodontal conditions and treatment needs, by CPITN, in the 35-44 and 65-74 years-old population in Santiago, Chile. *Int Dent J* 1998; 96-103.
- GEMMELL E, MARSHALL R, SEYMOUR G. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* 2000 1997; 14: 112-43.
- KORNMAN KS, CRANE A, WANG HY, DI GIOVINE FS, NEWMAN MG, PIRK FW ET AL. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 72-7.
- DANESH J, WHINCUP P, WALTER M, LENNON L, THOMSON A, APPLEBY P ET AL. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated metaanalyses. *BMJ* 2000; 321: 199-204.
- DANESH J. Coronary heart disease, *Helicobacter pylori*, dental disease, *Chlamydia pneumoniae*, and cytomegalovirus: meta-analyses of prospective studies. *Am Heart J* 1999; 138: S434-S437.
- D'AIUTO F, NIBALI L, PARKAR M, SUVAN J, TONETTI M. Short-term effects of intensive periodontal treatment and serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res* 2005; 84: 269-73.
- SLADE GD, OFFENBACHER S, BECK JD, HEISS G, PANKOW JS. Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *J Dent Res* 2000; 79: 49-57.
- WU T, TREVISAN M, GENCO RJ, FALKNER KL, DORN JP, SEMPOS CT. Examination of the relation between periodontal health status and cardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 273-82.
- PEARSON TA, MENSAH GA, ALEXANDER RW, ANDERSON JL, CANNON RRD, CRIQUI M ET AL. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.
- GABAY C, KUSHNER I. Acute-phase proteins and other systemic response to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-54.

11. MENDALL MA, STRACHAN DP, BUTLAND BK, BALLAM L, MORRIS J, SWEETNAM PM, ELWOOD PC. C-reactive protein relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. *Eur Heart J* 2000; 21: 1584-90.
12. MATTILA K, VESANEN M, VALTONEN V, NIEMINE M, PALOSUO T, RASI V, ASIKAINEN S. Effect of treating periodontitis on C-reactive protein levels: a pilot study. *BMC Infect Dis* 2002; 2: 30-3.
13. IDE M, MCPARTLIN D, COWARD PY, CROOK M, LUMB P, WILSON RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 334-40.
14. YAMAZAKI K, HONDA T, ODA T, UEKI-MARUYAMA K, NAKAJIMA T, YOSHIE H, SEYMOUR GJ. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and pro-inflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. *J Periodont Res* 2005; 40: 53-8.
15. D'AIUTO F, READY D, TONETTI MS. Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk. *J Periodont Res* 2004; 39: 236-41.
16. IOANNIDOU E, MALEKZADEH T, DONGARI-BAGTZOGLU A. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein levels: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2006; 77: 1635-42.
17. D'AIUTO F, PARKAR M, TONETTI MS. Acute effects of periodontal therapy on bio-markers of vascular health. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 124-9.
18. TÜTER G, KURTIS B, SERDAR M, AYKAN T, OKYAY K, YÜCEL A ET AL. Effects of scaling and root planing and subantimicrobial dose doxycycline on oral and systemic biomarkers of disease in patients with both chronic periodontitis and coronary artery disease. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 673-81.
19. POCIOT F, MOLVIG J, WOGENSEN L, WORSAAE H, NERUP JA. TA1 polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 396-402.
20. BERGER P, MCCONNELL JP, NUNN M, KORNMAN KS, SORRELL J, STEPHENSON K, DUFF GW. C-reactive protein levels are influenced by common IL-1 gene variations. *Cytokine* 2002; 17: 171-4.
21. IACOVIELLO L, DI CASTELNUOVO A, GATTONE M, PEZZINI A, ASSANELLI D, LORENZET R ET AL. Polymorphisms of the interleukin-1 β gene affect the risk of myocardial infarction and ischemic stroke at young age and the response of mononuclear cells to stimulation *in vitro*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 222-7.
22. EKLUND C, JAHAN F, PESSI T, LEHTIMAKI T, HURMME M. Interleukin 1B gene polymorphism is associated with baseline C-reactive protein levels in healthy individuals. *Eur Cytokine Netw* 2003; 14: 168-71.
23. DANESH J, COLLINS R, APPLEBY P, PETO R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: Meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998; 279: 1477-82.
24. NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM. The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. Bethesda, MD: National Institute of Health/National Heart, Lung and Blood Institute; 1997. NIH publication N° 98-4080.
25. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Cigarette smoking among adults-United States, 1992, and changes in the definition of current cigarette smoking. *MMWR* 1994; 43: 342-6.
26. D'AIUTO F, NIBALI L, MOHAMED-ALI V, VALLANCE P, TONETTI MS. Periodontal therapy: a novel non-drug-induced experimental model to study human inflammation. *J Periodont Res* 2004; 39: 294-9.
27. D'AIUTO F, PARKAR M, NIBALI L, SUVAN J, LESSEM J, TONETTI MS. Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: Results from a randomized controlled clinical trial. *Am Heart J* 2006; 151: 977-84.
28. BLAKE GJ, RIDKER PM. Inflammatory biomarkers and cardiovascular risk prediction. *J Intern Med* 2002; 252: 283-94.
29. CURB JD, ABBOTT RD, RODRÍGUEZ BL, SAKKINEN P, POPPER JS, YANO K, TRACY RP. C-reactive protein and the future risk of thromboembolic stroke in healthy men. *Circulation* 2003; 107: 2016-20.
30. HAJFAJEE AD, DIBART S, KENT RL JR, SOCRANSKY SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctive systemically administered agents in the treatment of periodontal infections. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 618-27.
31. HEAD TW, BENTLEY KC, MILLAR EP, DE VRIES JA. A comparative study of the effectiveness of metronidazole and penicillin V in eliminating anaerobes from postextraction bacteremias. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 58: 152-5.
32. FRÖHLICH M, IMHOF A, BERG G, HUTCHINSON WL, PEPYS MB, BOEING H ET AL. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome, a population-based study. *Diabetes Care* 2000; 23: 1835-9.
33. FRÖHLICH M, SUND M, LOWEL H, IMHOF A, HOFFMEISTER A, KOENIG W. Independent association of various smoking characteristics with markers of systemic inflammation in men. Results from a representative sample of the general population (MONICA Augsburg Survey 1994/95) *Europ Heart J* 2003; 24: 1365-72.
34. IKONOMIDIS I, ANDRELLI F, ECONOMOU E, STEFANADIS CH, TOUTOZAS P, NIHOYANNOPOULOS P. Increased pro-inflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation* 1999; 100: 793-8.
35. IMHOF A, FRÖHLICH M, BRENNER H, BOEING H, PEPYS MB, KOENIG W. Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. *Lancet* 2001; 357: 763-7.
36. KORNMAN KS, PANKOW J, OFFENBACHER S, BECK J, DI GIOVINE F, DUFF GW. Interleukin-1 genotypes and the association between periodontitis and cardiovascular disease. *J Periodontol Res* 1999; 34: 353-7.