

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA/
PERIODONTIA

CAROLINA BARRERA DE AZAMBUJA

Impacto da Doença Periodontal Sobre os Níveis de Estresse Oxidativo em
Doentes Renais Crônicos

Porto Alegre

2016

Carolina Barrera de Azambuja

**Impacto da Doença Periodontal sobre os Níveis de Estresse Oxidativo em
Doentes Renais Crônicos**

Linha de pesquisa

Epidemiologia, etiopatogenia e repercussão das doenças da cavidade bucal e estruturas anexas.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, nível Mestrado, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como pré-requisito final para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Clínica Odontológica, ênfase em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Alex Nogueira Haas

Porto Alegre

2016

CIP - Catalogação na Publicação

Barrera de Azambuja, Carolina

Impacto da Doença Periodontal sobre os Níveis de Estresse Oxidativo em Doentes Renais Crônicos / Carolina Barrera de Azambuja. -- 2016.

72 f.

Orientador: Alex Nogueira Haas.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. estresse oxidativo. 2. radicais livres. 3. espécies reativas de oxigênio. 4. periodontite. 5. insuficiência renal crônica. I. Nogueira Haas, Alex, orient. II. Título.

Foco e simplicidade. O simples pode ser mais difícil de fazer do que o complexo; trabalhe duro para clarear o seu pensamento.

Steve Jobs

AGRADECIMENTOS

Antes de agradecer a todos aqueles que merecem uma palavra, gostaria de dizer o quão importante pra mim é estar finalizando este Mestrado. Chegar até este momento, exige muita dedicação, persistência e calma. O caminho que me trouxe até aqui, é bem mais longo e teve participação de muitas pessoas importantes e queridas.

Gostaria de começar agradecendo aos meus pais e irmãos, cujo convívio diário ajuda a moldar minha personalidade. Quem está mais perto, acaba por vivenciar junto os momentos, então esta dissertação tem a participação deles nos bastidores. Obrigada, também, ao meu cunhado, que nos aguenta e acrescenta, já sendo parte da família. Cada um de vocês mereceria uma folha inteira de agradecimentos, mas é necessário resumir. Obrigada ao meu pai, Jacques, que com seu jeito peculiar, sempre incentivou que eu continuasse estudando. E continua querendo..... Obrigada a minha mãe coruja, Lyane, que sempre ofereceu um ambiente acolhedor e com o melhor possível pra que eu pudesse realizar minhas tarefas, além de ter revisado a dissertação. Obrigada aos dois pelo apoio e por entenderem meus momentos, mesmo quando não ajo com a maior simpatia do mundo. A minha irmã, Giovana, que sempre tem bons conselhos, ouvidos dispostos e preocupação com a minha felicidade acima de tudo. És uma ótima irmã mais velha. Obrigada ao meu irmão caçula, Gustavo, por quem tenho imenso carinho, identificação e admiração, um irmão muito carinhoso e inteligente, com quem espero poder contribuir, mas também sempre aprender.

Quando se olha para trás, se vê quanta mudança, quanto aprendizado. Uma das lembranças que vem à mente é o ingresso do curso de Odontologia, em 2007, quando havia muito desconhecimento e vontade de desbravar a futura profissão. Um ambiente fascinante, onde se aprende a importância a tratar as pessoas com humanidade e a valorizar o bem que se pode fazer a elas. Nessa época fiz muitos amigos, que carrego comigo até hoje, com quem convivo e converso sobre aspirações e receios e, acima de tudo, com quem sei que posso contar. Obrigada à Simone e à Tassi, minhas amigas orientadoras, que me ensinaram a melhorar na organização e estiveram presentes, entendendo quando eu adiava nossos encontros por estar ocupada ou ansiosa com o andamento do Mestrado. Obrigada também aos colegas de turma, em especial ao nosso grupo, formado por Zé, Bianca, Rê e Josi, pela parceria e amizade de vocês. Ter um grupo de amigos com afinidade e carinho que transcende a profissão é um privilégio!

A decisão de realizar um mestrado esteve relacionada a um interesse despertado pela pesquisa, desde a época de Graduação, através da Iniciação Científica. Agradeço aos professores que estiveram diretamente envolvidos: Cassiano Rösing, Alex Haas, além de Juliano Cavagni e Eduardo Gaio - na época, pós-graduandos.

Após a realização da Especialização em Periodontia, observei que mesmo com o título de especialista, sentia falta de um conhecimento mais aprofundado: como pensar de modo mais científico, como interpretar estudos, como lecionar uma aula, dentre tantas outras curiosidades. Dessa forma, decidi ingressar no Mestrado, mesmo com algumas dúvidas (dizem que são elas que movem o mundo).

Trabalhar e estudar ao mesmo tempo foi algo que me acrescentou muito, pois é um privilégio ter vivências de academia juntamente com experiências no mercado de trabalho. Agradeço aos colegas de trabalho, tanto do SECOVIMED, quanto de outros locais em que estive nesse período, pela compreensão, troca de conhecimentos e experiências, pelos momentos bons divididos.

Aos meus amigos, familiares e conhecidos que fizeram parte direta ou indiretamente desse período: turma do futsal, colegas de colégio e todas as pessoas com quem convivi ou que aguentaram minhas oscilações, alegrias e cansaços, muito obrigada! Em especial à turma do futsal, com quem convivo semanalmente e, local que muitas vezes usei como válvula de escape para as tensões diárias! Foi mal...

O mestrado, em si, é cheio de desafios. Muitas novidades, muitos assuntos a estudar, pesquisa a realizar, tudo devendo caber em dois anos de duração. Agradeço o convívio com meus colegas de Mestrado e de outras turmas do PPG, com quem dividi aflições e alegrias, e a quem desejo todo o sucesso sempre. Aos professores da Odonto UFRGS e da Periodontia que, de perto ou longe, sempre tiveram muita contribuição na minha formação, em especial Marilene, Pati, Sabrina, Daudt, Cassiano, Juliano e Duda.

Obrigada a todos os funcionários e pessoas com quem tive contato no Hospital de Clínicas de Porto Alegre: Serviço de Nefrologia, UAMP, Centro de Pesquisa Clínica, GPPG, CEP/HCPA, dentre outros setores. Especialmente, aos médicos, residentes, estudantes e funcionários da Nefrologia, cuja rotina “atrapalhei” e a quem muito auxílio pedi. Um agradecimento especial à equipe da UAMP, cujos funcionários foram sempre atenciosos e dedicados, mesmo com grande volume de trabalho. As pessoas que encontrei

no HCPA sempre foram muito solícitas e compreensivas, o que tornou o trabalho mais leve e humano.

À equipe diretamente envolvida na pesquisa, o grupo “Perio-Nefro”, parabéns pela disposição e trabalho empreendido nesta missão. Ainda não chegamos ao fim, mas atingimos mais um estágio importante. Obrigada ao Giuliano pela ideia inicial e pelas coletas de dados dos prontuários. Ao Professor Fernando Thomé, médico nefrologista do HCPA e professor da UFRGS, muito obrigada pela sua disponibilidade, pela aula de Nefrologia esclarecedora, por responder nossas dúvidas sempre e pelo convívio durante a pesquisa. Tenha certeza de que ganhaste a admiração de toda a nossa equipe.

Ao Michael, que esteve disponível desde o primeiro contato, dispendeu seu tempo para orientar, ensinar e realizar conosco as análises de estresse oxidativo, muito obrigada por toda a ajuda e conhecimento passado. Apesar da nossa inexperiência no assunto, tiveste muita calma e disposição para nos ensinar. Sem tua ajuda, não seria possível ter realizado esta dissertação!

Aos bolsistas de Iniciação Científica, os queridos Alfredo, Betina e Mari: agradeço por toda a ajuda fundamental na execução da pesquisa. Desculpem qualquer momento de correria, e saibam que vocês foram surpresas muito bem-vindas neste processo. Mari participou mais no final da pesquisa, com seu jeito ‘deboísta’, mas acima de tudo, com muito carisma e humanidade. Betina esteve desde o início com a gente, sempre disposta e atenciosa! Tenho certeza que cresceu e aprendeu muito nesse período, pode contar comigo pro que precisar! Alfredo, o Alf, o Taió, grande parceiro em todos os sentidos - seja de risada e festa ou trabalho e correria. Sempre acordando bem cedinho, sendo o primeiro a chegar, com piadas na ponta da língua e muita disposição. Obrigada Alf, pela ajuda em todos os momentos e até pelas caronas (Uber 5 estrelas).

Aos meus colegas de Mestrado mais próximos, Nica e Jasper, levo vocês dois no meu coração. Foi muito bom conhecer o jeito de cada um e passar por todo esse processo junto com vocês. Jasper, já éramos conhecidos da época do colégio, mas jamais havíamos tido mais contato. A convivência em ambiente de trabalho pode se tornar estressante, mas contigo não foi! Creio que formamos uma boa dupla e soubemos lidar com todas as dificuldades apresentadas, apoiando um ao outro e acreditando na filosofia de que era “o último gás”! Nica, que se tornou uma amiga desde o dia da seleção do Mestrado, com quem convivi fora do ambiente acadêmico, seja na praia ou em Porto Alegre, nos estudos,

pesquisa ou em momentos de lazer, com quem aprendi a tomar café sem açúcar (apesar de recaídas) e com quem me identifiquei. Foi muito bom ter te conhecido, pode ter certeza que tu foi umas das heranças mais positivas!

Aos meus orientadores da Periodontia, pois considero que tive o privilégio de ter orientação de dois excelentes professores: Alex e Tiago. Alex, obrigada pelo auxílio, principalmente neste momento final. Foi muito bom poder contar contigo! Apesar do acúmulo de trabalhos, sempre estiveste pronto para responder quaisquer dúvidas e ajudar no que fosse preciso. Poder contar com tua experiência e conhecimento científico foi de fundamental importância tanto para a minha formação quanto para este trabalho. Além disso, obrigada pelos momentos de descontração e alegria (#Alexteam)!

Ao Tiago, que comandou a pesquisa Perio-Nefro com maestria, mesmo com o aumento exponencial de funções, sendo a mais linda delas ter se tornado pai da Bia neste período. Obrigada por ter acreditado, nos motivado quando já estávamos cansados, ter sido sincero e transparente, ter aberto espaço para que aprendêssemos o que ansiávamos, além de ser receptivo às nossas opiniões. Ter um orientador assim foi especial, foi fundamental! Agradeço de coração pela tua disponibilidade, receptividade, conselhos e ensinamentos.

O Mestrado chega ao final, com muitas vivências que guardarei para sempre na memória. O mais importante foi realizar tudo com dedicação, com alma e com pensamento positivo!

Obrigada a todos!

RESUMO

Antecedentes & Objetivos: A produção de oxidação ocorre naturalmente no organismo via processos fisiológicos, entretanto, frente a situações patológicas verifica-se um desequilíbrio entre a oxidação e a antioxição, ocasionando estresse oxidativo (EO). Estudos demonstram maiores níveis de EO associados a diversas doenças, incluindo a doença periodontal (DP) e a doença renal crônica (DRC). O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto da DP sobre os níveis de EO em doentes renais crônicos pré-dialíticos.

Materiais e Métodos: Dados demográficos, socioeconômicos e de histórico médico de 139 pacientes do Serviço Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) foram obtidos por meio de entrevista e análise de prontuário. Foram realizados exames clínicos periodontais e coleta sanguínea e salivar. Associações entre a condição periodontal e níveis séricos e salivares de marcadores de estresse oxidativo foram avaliadas, através de antioxição total (FRAP) e sulfidrilas. Também foi avaliada correlação entre os níveis séricos e salivares de antioxição total.

Resultados: Médias de profundidade de sondagem estiveram significativamente associadas a maiores níveis séricos de sulfidrilas ($p=0,04$), quando ajustados para sexo e atividade física. Não foi observada associação significativa com os outros parâmetros séricos ou salivares de EO. Os níveis salivares de FRAP estiveram significativamente associados aos seus níveis séricos ($R^2= 0,23$, $p<0,001$).

Conclusões: A concentração salivar de FRAP explica aproximadamente 23% dos seus níveis séricos, utilizando modelos ajustados. Pacientes com maiores médias de profundidade de sondagem apresentaram maiores níveis séricos de sulfidrilas. Análises adicionais, avaliando também oxidação e dano proteico, proporcionarão dados para uma melhor compreensão do processo oxidativo nessa mesma amostra.

Palavras-Chave: estresse oxidativo, radicais livres, espécies reativas de oxigênio, periodontite, insuficiência renal crônica.

ABSTRACT

Background & Aims: The oxidation occurs naturally through physiological activities, but in pathological states an imbalance between oxidation and antioxidation is observed, resulting in oxidative stress (OS). Studies have shown higher levels of OS associated with several diseases, including periodontal disease (PD) and chronic kidney disease (CKD). The aim of the present study was to evaluate the impact of PD on OS levels in chronic pre-dialytic renal patients.

Materials & Methods: Demographic, socioeconomic and medical history data of 139 patients from the Department of Nephrology of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) were obtained through interview and medical records. Periodontal clinical examinations and salivary and blood collection were performed. Associations between periodontal status and serum and salivary levels of total antioxidation (FRAP) and sulfhydryl were evaluated, as well as a correlation between serum and salivary levels of total antioxidation.

Results: Higher probing depth means were significantly associated with serum sulfhydryl levels ($p = 0.04$) when adjusted for sex and physical activity. No significant association was observed with other serum or salivary OE markers. The salivary levels of FRAP were significantly associated with serum FRAP levels ($R^2 = 0.23$, $p < 0.001$).

Conclusion: FRAP salivary levels accounts for approximately 23% of FRAP serum levels using multivariate models. Higher probing depth means were associated with higher serum levels of sulfhydryl. Further analysis evaluating oxidation and protein damage will provide data for a better understanding of the oxidative process in this sample.

Keywords: oxidative stress, reactive oxygen species, periodontal diseases, renal insufficiency.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado é parte de um estudo maior que avaliou diferentes aspectos envolvidos na relação da doença periodontal com a doença renal crônica (DRC), intitulado “Associação entre doença periodontal e doença renal crônica”, realizado com pacientes com doença renal crônica pré-dialíticos em acompanhamento no Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Como resultado principal, verificou-se que ter periodontite grave aumentou significativamente a chance dos indivíduos apresentarem pior função renal ou estarem em estágios mais avançados de DRC.

O objetivo desta dissertação, em particular, foi avaliar o estresse oxidativo (EO), um mecanismo biológico que pode permear a relação da doença periodontal com a doença renal crônica. Para execução das análises, recebeu-se auxílio do Fundo de Incentivo e Pesquisa em Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, através do projeto número 160428. Nesta dissertação, serão apresentadas análises de dois biomarcadores de estresse oxidativo: antioxidação total e sulfidrilas, avaliados em amostras sanguíneas e salivares de 136 doentes renais crônicos. Estão previstas avaliações adicionais de oxidação total (status total oxidante) e dano oxidativo (carbonilas), uma análise extensa que propiciará um entendimento mais amplo do estresse oxidativo e da sua implicação na relação da doença periodontal com a doença renal.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
REVISÃO DE LITERATURA	13
DOENÇA RENAL CRÔNICA	13
DOENÇA PERIODONTAL	15
RELAÇÃO ENTRE DOENÇA RENAL CRÔNICA E DOENÇA PERIODONTAL	15
➤ PLAUSIBILIDADE BIOLÓGICA PARA A ASSOCIAÇÃO ENTRE DRC E DOENÇA PERIODONTAL	15
➤ ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E DOENÇA RENAL	17
ESTRESSE OXIDATIVO	18
➤ CONCEITO	18
➤ MENSURAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO	18
ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇA PERIODONTAL	21
➤ MECANISMO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇA PERIODONTAL	21
➤ AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM FLUIDOS ORAIS	22
➤ ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇA PERIODONTAL	22
ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇA RENAL CRÔNICA	27
➤ MECANISMO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE EO E DRC	27
➤ ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO ENTRE EO E DRC	27
JUSTIFICATIVA	32
OBJETIVOS	33
OBJETIVO GERAL	33
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
HIPÓTESE	34
MATERIAIS E MÉTODOS	35
DESENHO EXPERIMENTAL E SELEÇÃO DA AMOSTRA	35
➤ CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	35
➤ CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	35
PODER DO ESTUDO	36
PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	36
➤ ENTREVISTA	36
➤ COLETA SALIVAR	37

➤ EXAME PERIODONTAL	37
➤ COLETA SANGUÍNEA	38
➤ CENTRIFUGAÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS	38
➤ ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO	38
DADOS DE PRONTUÁRIOS	39
CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	39
FINANCIAMENTO	40
ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
RESULTADOS	43
<hr/>	
DISCUSSÃO	51
<hr/>	
CONCLUSÃO	56
<hr/>	
REFERÊNCIAS	57
<hr/>	
APÊNDICES	64
<hr/>	

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) consiste um importante problema de saúde pública mundial (1). É definida como uma anormalidade na função ou estrutura renal, presente por pelo menos três meses, com implicações para a saúde do indivíduo (2). A perda da função renal está associada a elevada morbimortalidade e à presença de condições patológicas tais como diabetes, hipertensão arterial e doença cardiovascular (3). Estima-se que a prevalência de DRC nos Estados Unidos seja de aproximadamente 13% (1), enquanto no Brasil estudos epidemiológicos abordando a prevalência de DRC ainda são escassos (4). Além disso, estima-se que o custo associado ao tratamento da DRC seja de, aproximadamente, 42 bilhões de dólares apenas nos Estados Unidos, o que representa uma parcela importante do gasto com saúde (5).

A DRC é caracterizada por uma perda progressiva e irreversível da capacidade de filtração dos rins, ainda que esforços sejam realizados para impedir ou reduzir a sua progressão (6). Os fatores de risco tradicionais para a DRC são hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, sexo masculino, raça negra, idade, tabagismo e presença DRC terminal na família. Além disso, praticamente todos os fatores de risco cardiovasculares, especialmente dislipidemia, obesidade, disfunção endotelial e estado inflamatório crônico também estão associados (7). Por este motivo, além dos fatores de risco tradicionalmente associados à DRC, novos fatores têm sido estudados como possíveis modificadores da ocorrência e progressão da doença renal. A doença periodontal, uma doença infecto-inflamatória que acomete os tecidos de proteção e sustentação dos dentes, tem sido uma das condições associadas a maior prevalência de DRC (8-10).

Uma possível hipótese de mecanismo pelo qual a doença periodontal influencia o curso da DRC, é através do Estresse Oxidativo (EO). O EO é conceituado como uma desordem na qual há predomínio de oxidantes sobre antioxidantes, acarretando dano celular em potencial (11). Estudos recentes associam a doença periodontal ao aumento nos níveis totais de oxidação (12-14), à redução nos níveis de antioxidação (12, 13, 15) e também à ocorrência de danos celulares oxidativos (12, 13, 16-20). Pacientes com DRC também têm demonstrado níveis alterados desses marcadores (21-23), especulando-se que casos mais avançados de doença periodontal possam acarretar em um agravamento do quadro nefrológico, tendo o estresse oxidativo como uma possível ligação.

Embora cada vez mais estudos associem a doença periodontal à DRC, poucos avaliam os possíveis mecanismos biológicos através dos quais essa associação ocorre. Assim sendo, estudos clínicos elucidando o impacto da doença periodontal sobre os marcadores de estresse oxidativo em pacientes com DRC pré-dialíticos podem auxiliar no estabelecimento de medidas preventivas e terapêuticas baseadas em evidências científicas.

REVISÃO DE LITERATURA

Doença Renal Crônica

Os rins são órgãos fundamentais para a homeostase do organismo humano, sendo responsáveis por funções vitais tais como controle dos níveis de água e eletrólitos, regulação da pressão arterial, síntese e excreção de hormônios e regulação do equilíbrio ácido-básico (3, 24).

A unidade funcional do rim denomina-se *néfron*. Estima-se que cada rim possua um milhão de néfrons, nos quais existe um conjunto de capilares glomerulares – o *glomérulo* – local onde ocorre filtração de grandes quantidades de líquidos do sangue; e através do *túbulo*, esse líquido filtrado é transformado em urina (25).

Na doença renal crônica, ocorre uma perda progressiva e irreversível dos néfrons funcionais, levando a um declínio das funções excretora, endócrina e metabólica dos rins. Não há, entretanto, uma correlação exata entre a redução do número de néfrons funcionais e a perda da função renal, pois o rim se adapta a essa situação através de uma hiperfiltração compensatória dos néfrons remanescentes, mantendo, inicialmente, a filtração estável. Porém, com a hiperatividade desses néfrons e conseqüente sobrecarga, eles acabam perdendo sua função, levando a um inevitável declínio da capacidade renal (24).

Apesar de a DRC ter como história natural o declínio irreversível da função renal, a velocidade com que essa progressão ocorre é variável, e nem todos os pacientes apresentarão piora. Intervenções nos estágios iniciais podem prevenir ou reduzir a velocidade da progressão da doença (6). O tratamento conservador é realizado desde os primeiros estágios da DRC, com enfoque principal em mudanças no estilo de vida e controle das comorbidades associadas (24).

A função renal é avaliada pela estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG), que corresponde à soma da filtração de todos os néfrons funcionantes (26), e varia com a idade, sexo e massa muscular (3). Além da TFG, avalia-se a presença de proteínas ou albumina na urina - proteinúria e albuminúria, respectivamente (27-29). O termo “proteinúria” é genérico, englobando a excreção urinária de albumina e quaisquer outros tipos de proteínas (3).

Indivíduos normais excretam pequena quantidade de proteínas na urina diariamente. A constatação da excreção aumentada de proteína na urina, todavia, denota presença de doença renal, uma vez que as proteínas passam pelo glomérulo renal sem ser filtradas, saindo para a urina, diferente do que ocorreria frente à função renal normal (3).

A classificação mais recente e amplamente utilizada para a DRC divide a doença em estágios, de acordo com a sua gravidade (2). As categorias de TFG e de albuminúria estão contidas no quadro 1.

Quadro 1. Categorias de taxa de filtração glomerular e albuminúria na Doença Renal Crônica (2):

Estágio:	TFG (ml/min/1,73m²)	Grau da doença:
1	≥90	Normal ou aumentada
2	60-89	Levemente diminuída
3a	45-59	Levemente a moderadamente diminuída
3b	30-44	Moderadamente a gravemente diminuída
4	15-29	Gravemente diminuída
5	<15	Falência funcional renal
Estágio:	Albuminúria (mg/g)	Grau de doença
A1	Abaixo de 30 mg/g	Normal ou levemente aumentada
A2	30 – 300 mg/g	Moderadamente aumentada
A3	Acima de 300 mg/g	Gravemente aumentada

Conforme ocorre piora na filtração glomerular até níveis muito baixos, associada a sintomas urêmicos ou outras desordens, constata-se a falência funcional renal, sendo necessária a realização de diálise ou de transplante renal, uma vez que os rins perderam a capacidade de manter suas funções essenciais (2).

Doença Periodontal

As doenças periodontais são desordens inflamatórias que afetam os tecidos de proteção e sustentação dos dentes. Incluem uma vasta gama de doenças, sendo que as formas mais comuns e prevalentes são a gengivite e a periodontite. A gengivite, considerada a forma mais leve da doença periodontal, não afeta as estruturas de base de suporte dos dentes e é reversível, sendo extremamente prevalente na população mundial. A periodontite, por sua vez, resulta na perda de tecido conjuntivo e de suporte ósseo, podendo acarretar perdas dentárias (30).

As doenças periodontais são causadas por microrganismos patogênicos orais, sendo que uma variedade de fatores sociais, comportamentais e genéticos influenciam o estabelecimento e progressão da doença. Embora as bactérias sejam necessárias para o início da doença, a resposta inflamatória do hospedeiro determina a extensão e severidade da destruição tecidual (31).

Relação entre Doença Renal Crônica e Doença Periodontal

A real força de associação entre essas duas doenças esbarra em sua complexidade biológica, pois há indicadores/fatores de risco em comum, como, por exemplo, a idade, o tabagismo e o diabetes. Tais condições também apresentam forte relação com as doenças cardiovasculares (32). Ainda assim, baseado na literatura, acredita-se que a associação entre as duas doenças não seja espúria, além de existirem teorias de plausibilidade biológica para justificar esta associação (8, 33, 34).

➤ Plausibilidade Biológica para a Associação entre DRC e Doença Periodontal

Há três possíveis mecanismos que explicam a associação entre doença periodontal e doença renal crônica:

a) Inflamação sistêmica crônica de baixa intensidade

Os pacientes afetados pela periodontite têm demonstrado níveis locais elevados de numerosas citocinas associadas com degradação de tecido conjuntivo e reabsorção óssea,

incluindo a IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Além disso, o tratamento periodontal está associado à diminuição dos níveis dessas citocinas locais (35). Uma inflamação sistêmica de baixa intensidade originada a partir da doença periodontal tem sido proposta como uma possível explicação para a ligação entre doenças periodontais e várias outras desordens/doenças sistêmicas (36). Corroborando esta hipótese, estudos têm observado que pacientes com periodontite têm níveis séricos aumentados de numerosos marcadores inflamatórios incluindo PCR, IL-1 β , IL-6 e TNF- α , o que sugere um estado pró-inflamatório sistêmico (37, 38)

b) Bacteremias sistêmicas

Sabe-se que a cavidade oral é colonizada por mais de 700 espécies bacterianas e a bacteremia oriunda da cavidade oral pode ocorrer durante a salivagem e a escovação. Há evidências sugerindo que o sulco gengival é a principal fonte e porta para a corrente sanguínea das espécies bacterianas orais detectadas no sangue (39). Bactérias presentes na cavidade oral são encontradas em diversos outros locais do organismo, demonstrando a possibilidade de contribuir para doenças sistêmicas. Acredita-se que periodontopatógenos circulantes na corrente sanguínea podem causar não só danos no endotélio cardíaco, mas também no endotélio renal (40, 41). Além disso, sabe-se que infecções agudas e crônicas podem incitar resposta inflamatória nos rins (34).

c) Estresse Oxidativo

Ao detectar a presença de patógenos periodontais, uma cadeia de eventos se inicia no hospedeiro na tentativa de combater esta agressão, incluindo a ativação de células fagocitárias (31). Apesar de essas células possuírem a função primordial de defesa contra os patógenos, elas também consistem uma rica fonte produtora de espécies reativas de oxigênio (ERO). Frente a condições patológicas, ocorre a ativação excessiva das células fagocitárias, implicando em produção descontrolada de ERO, e ocorrência de danos teciduais (42).

Este efeito colateral ao mecanismo de defesa é o mais aceito para explicar a relação do estresse oxidativo com uma grande variedade de doenças, principalmente doenças neurodegenerativas e câncer (43). Outras condições também têm sido associadas ao aumento nos níveis de estresse oxidativo: diabetes mellitus (44-46), síndrome metabólica

(47-49), obesidade (50), doenças cardiovasculares(51), doença renal crônica(52-54), dentre outras (55-57).

Dentre as teorias de plausibilidade biológica da associação da doença periodontal com outras doenças sistêmicas, o estresse oxidativo tem sido pouco explorado, oferecendo um amplo campo de estudo.

➤ Estudos de Associação entre Doença Periodontal e Doença Renal

As pesquisas sobre a possível inter-relação entre a doença periodontal e a doença renal crônica começaram a ganhar mais ênfase nos últimos dez anos. Muitos estudos, todavia, direcionam-se à terapia renal substitutiva via hemodiálise (58-60), momento em que não é mais possível a prevenção do declínio da função renal.

A maioria dos estudos observacionais encontrados na literatura em pacientes pré-dialíticos, apresentou relação positiva entre DRC e doença periodontal, com forças de associação de magnitude variável (8, 34, 40, 61-63) e sem padrão nos critérios de diagnóstico de doença periodontal (64). Para elucidar a associação entre a periodontite e a função renal, Chambrone e colaboradores realizaram uma revisão sistemática com metanálise, a partir de estudos observacionais (8, 34, 40, 63) e encontraram associação positiva (OR 1,65 $p < 0,00001$) entre a TFG e a presença de periodontite (65).

Na mesma revisão sistemática (65), foi objetivo dos autores analisar o efeito do tratamento periodontal sobre a taxa de filtração glomerular. Não foi possível a realização de metanálise e conclusões definitivas, apesar de os autores terem encontrado um efeito benéfico do tratamento periodontal sobre a TFG tanto de doentes renais crônicos quanto de pacientes saudáveis (sem DRC) (66, 67). Essas análises receberam críticas em função de apresentarem algumas restrições de qualidade (68) como, por exemplo, a inclusão de um estudo que não reportou dados da TFG após o tratamento periodontal (69), não tendo capacidade de responder a pergunta realizada.

De modo geral, verifica-se que a doença periodontal pode ser um fator adicional a influenciar a ocorrência da DRC (70). Os mecanismos pelos quais isso ocorre, merecem especial atenção, pois somente através deles é possível buscar formas de prevenção e tratamento das doenças renais crônicas.

Estresse Oxidativo

➤ Conceito

O estresse oxidativo é conceituado como o desequilíbrio entre a produção de radicais livres (ou espécies reativas não-radicalares) e a antioxidação, que possui como consequência danos celulares a lipídios, proteínas ou até ao DNA (71).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são capazes de extrair elétrons e de oxidar uma variedade de biomoléculas vitais ao funcionamento das células e dos tecidos, pois possuem elétrons não-pareados em seus orbitais (72). É importante ressaltar que elas estão naturalmente presentes no organismo, sendo geradas através de processos fisiológicos, principalmente a respiração celular. A mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora (73).

Sabe-se que as ERO podem representar uma ameaça à sobrevivência celular, e seus efeitos tóxicos permeiam o envelhecimento e morte celular. Dessa forma, é vantajoso que os níveis de oxigênio sejam o suficiente para permitir a respiração via mitocôndrias, mas não tão altos a ponto de poderem gerar prejuízos ao organismo (74).

Apesar de existirem mecanismos de defesa no organismo humano, nem sempre é possível manter uma situação de equilíbrio. Quando os mecanismos de defesa não suplantam os níveis de produção pró-oxidante, danos poderão ocorrer, ou seja, estresse oxidativo (71).

➤ Mensuração do Estresse Oxidativo

Uma vez que o estresse oxidativo pode ser ocasionado a partir de um excesso de oxidação, diminuição na capacidade antioxidativa, ou a combinação de ambos, associados a diferentes tipos de danos, existe uma vasta gama de metodologias e de possíveis biomarcadores a serem estudados, não havendo um padrão-ouro. Adicionalmente, o EO pode ser investigado em diferentes fluidos, tecidos ou células do corpo humano, fatores que dificultam a comparação entre os estudos (23, 75).

Em nosso organismo, são produzidas espécies reativas de carbono, enxofre e nitrogênio, mas as de oxigênio ganham destaque devido à reatividade e aos danos que podem causar, através de radicais livres como o superóxido e oxigênio *singlet*, tendo sido as mais estudadas na literatura (76). O termo “espécies reativas do oxigênio” (ERO) inclui não somente os radicais livres, mas também espécies não radicalares, como o peróxido de hidrogênio, que é capaz de levar à formação do radical hidroxila (77).

a) Oxidação

Em função do ambiente dinâmico encontrado no estresse oxidativo, a medição direta de oxidantes torna-se difícil. As espécies reativas possuem meia-vida extremamente curta (segundos) e os sistemas desenvolvidos para captá-las devem ser sensíveis e efetivos, além de expressar as condições intracelulares com fidedignidade (78). A concentração de diferentes espécies oxidativas pode ser determinada separadamente ou em conjunto. A análise isolada de espécies reativas requer tempo, custos elevados, equipamentos e técnicas mais complexas, sendo que mensurar a oxidação total oferece melhor custo-benefício, além de fornecer informações gerais do status pró-oxidante no organismo (79).

Na área da odontologia, duas técnicas têm sido mais utilizadas para mensurar as espécies reativas: a) Diacron Reactive Oxygen Metabolites (D-ROM) (80, 81), cuja validade tem sido questionada (82) e b) Status Oxidante Total (TOS) (12, 13, 83), que mede a oxidação do íon férrico em íon ferroso mensurada pelo alaranjado de xilenol (colorimétrico) (79).

b) Antioxidação

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria das espécies reativas (76). Divide-se em sistema enzimático - sendo as principais enzimas a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) - e não-enzimático - constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, de origem endógena ou exógena, tais como a glutathione, o ácido úrico, as vitaminas A, C e E, albumina, dentre outros (73).

Para mensurar a antioxidação enzimática, recomenda-se analisar as principais enzimas envolvidas nas reações de oxirredução (CAT, SOD e GPx) (17). O sistema antioxidante enzimático e a glutathione (GSH) são encontrados, predominantemente, no meio intracelular, motivo pelo qual se recomenda sua medição em eritrócitos (84).

O sistema antioxidante não enzimático encontra-se principalmente no meio extracelular, podendo ser analisado no soro ou plasma sanguíneo (84). É possível a aferição da antioxidação não enzimática através de diversas técnicas, avaliando tanto os níveis específicos de alguns antioxidantes, quanto níveis totais (85).

Um das possíveis medições não enzimáticas é a avaliação dos grupamentos tióis (RSH), que contém a sulfidril (-SH) em sua composição. Em sistemas biológicos, as concentrações extracelulares de diferentes tióis são reguladas, sendo que alterações nos seus níveis incitam respostas celulares. Ao reagir com praticamente todos os oxidantes fisiológicos, os tióis são antioxidantes-chave na manutenção da homeostase intra e extracelular. Eles indicam padrão redox, supondo-se que, frente a maior quantidade de -SH, o meio está neutralizando ou reduzindo oxidantes e, frente a menor quantidade, o meio está oxidante. Os tióis são suscetíveis tanto a oxidações reversíveis (*i.e.* reação com dissulfetos) quanto irreversíveis (86, 87).

A mensuração de antioxidantes específicos não leva em conta o fato de que os antioxidantes agem em cooperação, e não separadamente, portanto, a soma de antioxidantes individuais não representará a capacidade global de neutralizar ERO e reparar danos teciduais. A antioxidação total, por sua vez, fornece dados da complexidade das interações, reduz custos e tempo operacional, além de poder acrescentar informações de espécies desconhecidas ou tecnicamente difíceis de acessar (75).

Existem diversas técnicas para mensurar antioxidação total em uma amostra, conhecidos como testes de Capacidade de Antioxidação Total (TAOC, TAC) ou, ainda Status Total Antioxidante (TAS). São exemplos: o ensaio baseado na redução do cátion ABTS•, o potencial biológico antioxidante (BAP), o poder antioxidante da redução de ferro no plasma (FRAP), o ensaio de quimioluminescência (ECL), dentre outros (85).

O método “FRAP” avalia a antioxidação total não enzimática e apresenta vantagens, tais como baixo custo, reagentes de simples preparação, resultados reprodutíveis, procedimento rápido e direto, podendo ser realizado com facilidade e em pouco tempo (88). Apesar de ser um método amplamente conhecido, tem sido pouco utilizado no campo da Odontologia.

c) Danos Oxidativos

Em relação aos prejuízos celulares causados pelo estresse oxidativo, classificam-se em três tipos principais: danos lipídicos, proteicos e ao DNA (75). Existem diversas

metodologias para avaliar cada tipo de dano, sendo que danos ao DNA são frequentemente avaliados através da mensuração de 8-dihidroxi-2' deoxiguanosina (8-OHdG), um produto da oxidação da guanina (89-92). Danos proteicos costumam ser avaliados através dos grupos tióis/sulfidrila e carbonilas ou por produtos avançados de oxidação proteica (16, 52, 92). Os danos lipídicos, por sua vez, são frequentemente avaliados através da mensuração do malondialdeído (MDA)(13, 93), isoprostanos e isofuranos (54).

Os danos proteicos consistem alvos importantes para as espécies reativas, uma vez que são muito abundantes no corpo humano e responsáveis por grande parte dos processos funcionais. As sulfidrila, além de demonstrar antioxidação e defesa contra o EO, podem ser marcadores de danos proteicos reversíveis, em função do dinamismo das reações de oxirredução. As carbonilas, por sua vez, mostram danos considerados irreversíveis (53, 94).

Estresse Oxidativo e Doença Periodontal

➤ Mecanismo de Associação entre Estresse Oxidativo e Doença Periodontal

A periodontite consiste uma doença infecto-inflamatória iniciada e perpetuada pela presença bacteriana na bolsa periodontal. O biofilme bacteriano pode gerar destruição local diretamente através de produtos tóxicos ou indiretamente pela ativação de sistemas de defesa do hospedeiro, a inflamação (31). Além do aumento de diversos marcadores inflamatórios frente à periodontite, tais como proteína C-reativa, IL-6 e TNF- α , verifica-se aumento das espécies reativas de oxigênio, havendo relação entre inflamação e estresse oxidativo (77).

O consumo de oxigênio das células inflamatórias ao combater um estímulo nocivo é bem maior do que o usual. A captação do oxigênio ocorre pela ação da NADPH oxidase que aumenta a produção de NADPH e acaba produzindo ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, ácido hipocloroso dentre outras ERO, capazes de gerar reações em cadeia e danificar as células (77), agravando ainda mais um quadro de doença.

Em uma extensa revisão da literatura, a complexidade da relação entre estresse oxidativo e o estabelecimento da periodontite foi descrita. A hiperatividade dos neutrófilos periféricos foi descrito como um elemento constituinte fundamental (75).

➤ Avaliação do Estresse Oxidativo em Fluidos Orais

No corpo humano, pode-se estudar o estresse oxidativo em diversos fluidos corporais, bem como em tecidos ou células. Especificamente na área da Odontologia, o EO costuma ser avaliado localmente através da saliva e do fluido crevicular gengival (FCG) (12, 95, 96). A vantagem da avaliação salivar em comparação com o fluido crevicular gengival se deve à maior quantidade disponível do primeiro em comparação com o segundo, aos custos reduzidos e à facilidade de coleta. Além disso, enquanto o FCG fornece amostra de sítios específicos, a saliva representa a cavidade oral como um todo (17, 97). É crescente o uso da saliva como um fluido diagnóstico não só para a cavidade oral, como para o organismo em geral (98, 99). No campo do estresse oxidativo, diversos estudos avaliaram a capacidade da doença periodontal em causar alterações locais e sistêmicas nos indivíduos, comparando níveis salivares e sanguíneos (12, 13, 17).

➤ Estudos de Associação entre Estresse Oxidativo e Doença Periodontal

Além da oxidação exacerbada frente às doenças periodontais (12-14, 17, 100), há evidência do comprometimento da capacidade antioxidante dos tecidos e fluidos periodontais, independentemente da metodologia de análise (13, 15, 17, 20, 96, 101). Tanto a pró-oxidação quanto a redução na antioxidação poderão gerar mais danos celulares e teciduais, encontrando-se relação da periodontite com diferentes tipos de danos oxidativos: lipídicos (12, 20), proteicos (16) e ao DNA (15, 20, 89).

Além da verificação de níveis locais/orais de EO aumentados na periodontite, foi constatada uma influência da periodontite em alguns marcadores de EO no sangue periférico de pessoas com periodontite comparado a controle, sugerindo um possível efeito sistêmico da inflamação periodontal (12, 13). Portanto, é plausível a hipótese de a periodontite agravar condições sistêmicas tendo como mecanismo o estresse oxidativo, o que se verifica pela piora nos marcadores encontrados em amostras sanguíneas de pacientes com periodontite comparado a controle em diversas condições, tais como resistência à insulina, obesidade, doenças cardiovasculares e doença renal crônica (49).

O quadro 2 resume alguns dos estudos observacionais transversais avaliando a relação entre doença periodontal e EO. Os critérios de definição de doença periodontal e as metodologias de avaliação de EO variaram amplamente entre os estudos encontrados.

Quadro 2. Estudos de associação entre estresse oxidativo e doença periodontal.

Autor, Ano	Amostra	Mensuração EO	Critérios de Doença Periodontal	Resultados Principais
Brock et al., 2004 (96)	Controle: 17 Periodontite Crônica: 17	SORO, PLASMA, SALIVA e FCG →Antioxidação total (TAOC) - Ensaio de quimioluminescência	Controle: sem PI, PS≤3mm e <10% de sangramento Periodontite: ≥2 sítios não-adjacentes por quadrante com PS≥5mm e SS, perda óssea ≥30% do comprimento da raiz (exceto primeiros molares e incisivos)	-Menos antioxidação no FCG e plasma de pacientes com periodontite comparado a controle (p<0,05). Sem diferenças significativas no soro e saliva.
Akalin et al., 2007 (12)	Controle: 28 Periodontite Crônica: 36	SORO, SALIVA e FCG →Oxidação total -Status Oxidante Total (TOS) →Dano lipídico - Malondialdeído (MDA)	Controle: sem histórico de DP, PS≤3mm e PI≤1mm; sem sinais de inflamação. Periodontite: dentes com 30% de perda óssea e PS≥5mm. Presença de SS.	-Mais oxidação em periodontite nos três fluidos avaliados (p<0,05); - Mais dano lipídico em periodontite, verificado na saliva e no FCG (p<0,05). Sem diferença significativa no soro.
Canakci et al., 2009 (20)	Controle: 30 Periodontite: 30	SALIVA →Dano ao DNA -8 -OHdG →Dano lipídico -Malondialdeído (MDA) →Antioxidação -Enzimas superóxido dismutase e glutathiona peroxidase	Controle: sem histórico de DP, sem inflamação gengival. Periodontite: 2 sítios com PS≥4mm, inflamação gengival e perda óssea ≥30%.	-Mais dano oxidativo lipídico e ao DNA em periodontite do que no grupo controle (p<0,001). -Menos antioxidação enzimática em periodontite do que no grupo controle (p<0,05).

<p>Baltacioglu et al., 2014 (13)</p>	<p>Controle: 30 Periodontite Crônica: 33 Periodontite Agressiva: 35</p>	<p>SORO E SALIVA</p> <p>→ Oxidação total - Status oxidante total (TOS)</p> <p>→ Antioxidação total (TAOC) - Ensaio de redução do cátion ABTS•</p> <p>→ Oxidação/Antioxidação - Índice de estresse oxidativo (TOS/TAOC) x100</p> <p>→ Dano lipídico - Malondialdeído (MDA)</p>	<p>Controle: sem histórico de DP, PS ≤ 3mm e PI ≤ 1mm, sem inflamação gengival.</p> <p>Periodontite Crônica: Perda óssea ≥ 30%, PI ≥ 5 mm e PS ≥ 5 mm em ≥ 1 sítio e múltiplos sítios dos 4 quadrantes bucais.</p> <p>Periodontite Agressiva: 18-40 anos, ≥ 20 dentes, PI ≥ 6mm e PS ≥ 6mm em ≥ 2 sítios em ≥ 12 dentes, sendo ≥ 3 dentes além de primeiros molares e incisivos. Agregação familiar.</p>	<p>- Mais oxidação e menos antioxidação em periodontite do que no grupo controle, gerando um Índice de estresse oxidativo mais elevado em periodontite (p < 0,05).</p> <p>- Mais dano lipídico salivar em periodontite comparado ao grupo controle (p < 0,05) Sem diferenças no dano lipídico mensurado no soro.</p> <p>- Níveis de TOS e TAOC medidos em soro e saliva estiveram correlacionados (p < 0,05).</p>
<p>Tamaki et al., 2015 (100)</p>	<p>Periodontite Leve/Saúde: 92 Periodontite Moderada: 43 Periodontite Grave: 25</p>	<p>SALIVA</p> <p>→ Oxidação - Atividade de superóxido e hidroxila, por ressonância de spin eletrônico</p>	<p>Periodontite Leve: ≥ 2 sítios proximais com PI ≥ 3 mm e PS ≥ 4mm (não no mesmo dente) ou 1 sítio com PS ≥ 5mm.</p> <p>Periodontite Grave: ≥ 2 sítios interproximais com PI ≥ 6 mm (não no mesmo dente) e ≥ 1 sítio interproximal com PS ≥ 5mm.</p> <p>Periodontite Moderada: ≥ 2 sítios interproximais com PI ≥ 4mm ou com PS ≥ 5mm, em dentes diferentes.</p> <p>(Segundo critério de Eke et al., 2012(102))</p>	<p>- Maior atividade oxidativa conforme aumento da gravidade de doença periodontal, mesmo após ajustes (p < 0,05).</p>

<p>Villa-Correa et al., 2015 (89)</p>	<p>Controle: 50 Periodontite Crônica: 110</p>	<p>SALIVA</p> <p>→Dano ao DNA -8-OHdG e HNE/α1-PI</p>	<p>Controle: sem histórico de DP, PS \leq3mm, sem inflamação gengival, \leq10% dos sítios com SS.</p> <p>Periodontite: \geq20 dentes, \geq4 sítios com PS \geq4mm e PI\geq2mm, além de perda óssea radiográfica \geq2mm além da JAC.</p>	<p>- Maior dano oxidativo em periodontite do que em controle, mesmo após ajuste para fumo e idade (p<0,05).</p>
----------------------------------------------	---------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Legenda: EO: estresse oxidativo; PS: profundidade de sondagem; SS: sangramento à sondagem; PI: perda de inserção; FCG: fluido crevicular gengival; DP: doença periodontal; 8-OHdG: 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina; HNE/ α 1-PI: elastase neutrofílica humana / inibidor de α 1-proteinase; JAC: junção amelocementária.

Estresse Oxidativo e Doença Renal Crônica

➤ Mecanismo de Associação entre EO e DRC

O estresse oxidativo está implicado na patofisiologia da DRC. Mesmo nas fases iniciais, é possível verificar elevações de marcadores de EO e, quanto pior a função renal, mais acentuados esses níveis se encontrarão (103).

Acredita-se que o EO esteja associado tanto direta quanto indiretamente à progressão de DRC: diretamente, através de dano glomerular e isquemia renal e, indiretamente, pela associação com condições tais como má nutrição, inflamação, diabetes, hipertensão, disfunção endotelial e doença cardiovascular (104).

Existem evidências de uma forte relação entre EO, inflamação e dano renal, todavia, não há discernimento entre o responsável primário pelo início da série de eventos envolvidos na DRC (105). Além disso, ainda não há dados robustos para determinar um biomarcador a ser rotineiramente pesquisado ou terapias de redução de EO para doentes renais crônicos, sendo necessários mais estudos (103, 106).

➤ Estudos de Associação entre EO e DRC

A DRC está associada com alteração nos marcadores de estresse oxidativo, principalmente em estágios mais avançados da doença, devido ao aumento excessivo da oxidação relacionado ao ambiente tóxico promovido pela DRC, que acaba produzindo danos celulares e agravando a condição dos pacientes (23).

Em patologias renais, o aumento na oxidação e uma possível redução na antioxidação geram danos oxidativos proteicos (52, 107-109), lipídicos (21, 22, 52, 107-109), bem como ao DNA (107, 110), que costumam estar mais exacerbados conforme aumenta a gravidade da DRC.

Os estudos observados (quadro 3) frequentemente comparam a presença de DRC com a sua ausência (grupo controle), ou então a doença renal pré-dialítica com a diálise. Poucos avaliaram se diferentes estágios de DRC pré-dialítica poderiam acarretar níveis alterados de EO entre si e, além disso, a saliva não foi utilizada como fluido de análise.

Quadro 3. Estudos de associação entre estresse oxidativo e doença renal crônica.

Autor, Ano	Amostra	Mensuração EO	Resultados Principais
<p>Himmelfarb et al., 2000 (53)</p>	<p>Controle: 10 DRC Pré-diálise: 10 Hemodiálise: 10 Diálise Peritoneal: 9</p>	<p>PLASMA</p> <p>→Dano proteico/Antioxidação -Tióis/sulfidrilas</p> <p>→Dano proteico -Carbonilas</p>	<p>-Os grupos com DRC apresentaram menores níveis de tióis e maiores níveis de carbonilas comparado ao grupo controle, demonstrando mais estresse oxidativo ($p<0,05$).</p>
<p>Oberg et al., 2004 (52)</p>	<p>Controle: 48 a 70 DRC estágios III-V: 60</p>	<p>PLASMA</p> <p>→Dano proteico/Antioxidação -Tióis/sulfidrilas</p> <p>→Dano proteico -Carbonilas</p> <p>→ Dano lipídico -F2-Isoprostanos</p>	<p>-O grupo com DRC apresentou menores níveis de tióis e maiores níveis de carbonilas e isoprostanos comparado ao grupo controle, demonstrando mais estresse oxidativo ($p<0,001$).</p>

<p>Dounousi et al., 2006 (22)</p>	<p>DRC estágio I: 17 DRC estágio II: 26 DRC estágio III: 22 DRC estágio IV: 22</p>	<p>PLASMA/SORO</p> <p>→Dano lipídico -Isoprostanos em plasma</p> <p>→Antioxidação total -Ensaio de redução do cátion ABTS• em soro</p>	<p>- Gradiente maior de dano lipídico e de antioxidação total conforme aumento dos estágios de DRC ($p < 0,05$).</p> <p>- Relação inversa da TFG com o dano lipídico e a antioxidação total ($p < 0,01$).</p>
<p>De Vecchi et al., 2009 (21)</p>	<p>Controle: 30 DRC Pré-diálise: 26 Diálise Peritoneal: 23 Hemodiálise: 30</p>	<p>PLASMA</p> <p>→Dano lipídico -Malondialdeído (MDA)</p>	<p>-Mais dano lipídico em todos os grupos de DRC, comparados ao grupo controle ($p < 0,001$).</p>
<p>Granata et al., 2009 (110)</p>	<p>Controle: 12 DRC estágios IV e V: 10 Hemodiálise: 14</p>	<p>SORO</p> <p>→ Dano ao DNA -8-OHdG</p>	<p>-Mais dano oxidativo ao DNA em DRC comparado a controle ($p < 0,05$).</p>

<p>Kuchta et al., 2011 (108)</p>	<p>Controle: 35 DRC estágios III-V: 41 Diálise Peritoneal: 46 Hemodiálise: 36</p>	<p>PLASMA/SORO</p> <p>→Dano lipídico -Malondialdeído (MDA) e lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (oxLDL)</p> <p>→Dano proteico -Produtos avançados de oxidação proteica (AOPP)</p> <p>→Antioxidação total -Ensaio de redução do cton ABTS•</p> <p>→Antioxidação enzimática -Enzimas paraoxonase-1 e glutathiona peroxidase</p>	<p>- Níveis aumentados de todos os marcadores de dano oxidativo em DRC comparado a controle ($p < 0,05$);</p> <p>- Antioxidação total maior em todos os grupos de DRC comparado a controle ($p < 0,05$);</p> <p>- Menos antioxidação enzimática em DRC comparado a controle ($p < 0,05$).</p>
<p>Rangel-López et al., 2013 (107)</p>	<p>Controle: 61 DRC estágio IV: 23 Diálise Peritoneal: 33 Hemodiálise: 35</p>	<p>SORO</p> <p>→Dano lipídico -Malondialdeído (MDA)</p> <p>→Dano ao DNA -8-OHdG</p> <p>→Dano proteico -Produtos avançados de oxidação proteica (AOPP)</p> <p>→Dano proteico/Antioxidação -Tióis/sulfidrilas</p>	<p>- Níveis aumentados de todos os marcadores de dano oxidativo em DRC comparado a controle ($p < 0,05$);</p> <p>-Sem diferença nos níveis de sulfidrilas entre DRC estágio IV e hemodiálise comparado a controle ($p > 0,05$).</p>

<p>Tbahriti et al., 2013 (109)</p>	<p>DRC estágio I: 28 DRC estágio II: 28 DRC estágio III: 28 DRC estágio IV: 18 Diálise Peritoneal: 25 Hemodiálise: 40</p>	<p>PLASMA/ERITRÓCITOS</p> <p>→Dano lipídico -Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e hidroperóxidos (LPO)</p> <p>→ Dano proteico -Carbonilas</p> <p>→Antioxidação -Enzimas superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase e glutatona reductase</p> <p>-Vitamina E, ferro e bilirrubina</p>	<p>- Todas as medidas de dano apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre todos os grupos ($p < 0,001$), com um gradiente de dano maior conforme a gravidade do estágio de DRC;</p> <p>-Todas as medidas de antioxidação apresentaram declínio significativo conforme a gravidade da DRC, com diferença significativa entre os grupos ($p < 0,001$).</p>
<p>Gamboa et al., 2016</p>	<p>Controle: 109 DRC estágios III a IV: 36 Hemodiálise: 63</p>	<p>PLASMA</p> <p>→ Dano lipídico -F2-Isoprostanos e Isofuranos</p>	<p>- Níveis de isoprostanos não diferiram entre os grupos estudados ($p > 0,05$);</p> <p>- Maiores níveis de isofuranos em pacientes em hemodiálise comparados a controle ($p = 0,001$), mas não mostrou comparação entre DRC e controle.</p>

Legenda: DRC: doença renal crônica, TFG: taxa de filtração glomerular; 8-OHdG: 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina.

JUSTIFICATIVA

Uma associação entre doença periodontal e doença renal crônica tem sido descrita na literatura, porém os possíveis mecanismos que permeiam essa relação ainda permanecem pouco explorados. Embora reações de estresse oxidativo tenham sido associadas tanto à doença periodontal quanto à doença renal crônica, nenhum estudo avaliou a associação de marcadores de estresse oxidativo em doentes renais crônicos com diferentes níveis de doença periodontal.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar o impacto da doença periodontal sobre os níveis de estresse oxidativo em pacientes pré-dialíticos com DRC.

Objetivos específicos

- Avaliar o efeito dos parâmetros clínicos periodontais nos níveis salivares e sanguíneos de antioxidação total e sulfidrilas em doentes renais crônicos;
- Correlacionar os níveis salivares e sanguíneos de antioxidação total e sulfidrilas em doentes renais crônicos.

HIPÓTESE

A hipótese do estudo é que doentes renais crônicos com periodontite apresentarão maiores níveis de estresse oxidativo se comparados a doentes renais crônicos saudáveis periodontalmente. Além disso, supõe-se que os níveis de estresse oxidativo salivares e séricos estejam correlacionados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho Experimental e Seleção da Amostra

O estudo apresenta delineamento observacional transversal analítico.

Foi conduzido com doentes renais crônicos em atendimento no Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram selecionados nefropatas nos estágios 3, 4 e 5 de DRC, de acordo com os critérios abaixo explicitados.

➤ Critérios de Elegibilidade

- Estar em acompanhamento no Ambulatório de Nefrologia do HCPA, com diagnóstico de Doença Renal Crônica;
- Apresentar taxa de filtração glomerular menor de 60 ml/min/1,73m², sem estar em tratamento dialítico;
- Possuir mais de 18 anos de idade;
- Não ser portador do vírus HIV;
- Não possuir diagnóstico, nem estar em tratamento de neoplasia maligna;
- Não ser gestante ou lactante.

Os indivíduos que perfizeram os critérios de elegibilidade foram contatados para verificação da adequação aos critérios de inclusão e convite à participação.

➤ Critérios de Inclusão

- Possuir, no mínimo, quatro dentes em boca;
- Não ter utilizado antibiótico ou imunossupressor nos últimos 6 meses;
- Não estar utilizando aparelho ortodôntico, nem ter realizado tratamento periodontal nos 6 meses prévios ao exame;
- Ler, consentir e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Todos os motivos para não elegibilidade/não inclusão foram anotados. Os pacientes que não atenderam os critérios ou que recusaram participação no estudo continuaram normalmente seu atendimento no Serviço de Nefrologia.

Poder do Estudo

Uma vez que este trabalho deriva de um projeto maior, que envolveu o estudo da doença periodontal como provável preditor de risco para a condição renal de pacientes pré-dialíticos, o tamanho amostral decorre do estudo original. Não foram encontrados na literatura estudos prévios que tenham avaliado a associação entre doença periodontal como exposição principal e estágio de doença renal em pacientes pré-dialíticos como desfecho. Por este motivo, não foi possível realizar um cálculo amostral prévio, optando-se pela inclusão consecutiva da amostra no período de um ano, que resultou em 139 pacientes.

Foi considerada como exposição principal a presença de periodontite grave e como desfecho primário estar em estágios de doença renal mais avançados (estágios 4 e 5). Partindo-se de um modelo de regressão logística, obteve-se odds ratio igual a 3, ou seja, indivíduos com periodontite grave tiveram 3 vezes mais chance de estarem em estágios avançados de DRC. Realizou-se cálculo do poder da amostra, obtendo-se poder acima de 80%.

Procedimentos Experimentais

Este estudo foi conduzido em parceria da Faculdade de Odontologia da UFRGS (FO-UFRGS) com o Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os pacientes elegíveis foram contatados no Serviço de Nefrologia do HCPA. Todos os pacientes que perfizeram os critérios de inclusão e aceitaram a participação no estudo foram agendados para uma consulta na FO-UFRGS. A recusa em participar não resultou em nenhuma alteração no tratamento nefrológico realizado no serviço.

➤ Entrevista

Foi realizada uma entrevista com base em um questionário estruturado através do software RED CAP® (111)(Apêndice I) contendo informações a respeito de dados

demográficos, socioeconômicos, hábitos de higiene bucal, tratamento dentário, estado de saúde sistêmica e variáveis comportamentais como fumo e consumo de álcool. Integrantes da equipe treinados conduziram as entrevistas, evitando direcionar as respostas, inibir ou induzir quaisquer reações dos pacientes.

➤ Coleta Salivar

Após a entrevista, foi realizada a coleta de saliva não estimulada no turno da manhã. Os pacientes foram previamente instruídos a não comer ou beber, nem realizar higiene bucal uma hora antes da consulta. As amostras de saliva total foram obtidas com os pacientes sentados, com o tronco levemente inclinado para frente, deixando a saliva fluir passivamente em potes coletores universais estéreis de 80 ml durante dez minutos. Amostras com sangue visível foram descartadas. A quantidade de saliva coletada foi mensurada com uma seringa milimetrada de 10 ml para cálculo do fluxo de salivação não estimulado em ml/min (112).

➤ Exame Periodontal

Um exame periodontal completo (seis sítios por dente em todos os dentes, exceto terceiros molares) foi realizado por dois examinadores treinados e calibrados. Foi utilizado o índice de correlação intraclasse (ICC) para avaliar a concordância entre os exames de profundidade de sondagem (PS) e perda de inserção (PI), com aproximadamente 10% da amostra. O ICC intraexaminador foi acima de 0,6 para os dois parâmetros periodontais e o ICC interexaminador foi de 0,70 para PS e 0,82 para PI.

Foi utilizada sonda periodontal milimetrada (HuFriedy, PCP10-SE, Chicago, EUA), odontoscópio e pinça. Os exames foram anotados em uma ficha clínica de exames periodontais padronizada (Apêndice II) e, posteriormente, digitados no software Epidata® versão 3.1. (113).

Os seguintes parâmetros clínicos periodontais foram avaliados:

- a. Índice de Placa Visível (114): registrada presença (1) ou ausência (0) de placa bacteriana, sem utilização de sonda, após secar a superfície dentária com ar comprimido.
- b. Índice de Sangramento Gengival (114): a sonda periodontal foi inserida 1-2 mm intrasulcular e percorrida da face distal para a mesial. Registrada ausência (score 0) ou presença (score 1) de sangramento da margem da gengiva.
- c. Fatores Retentivos de Placa: registrada a presença ou ausência de cálculo, cavidades e restaurações mal adaptadas, com falta ou excesso de material e restos radiculares até 1 mm abaixo da margem gengival;

- d. Profundidade de Sondagem (PS): a distância entre a margem da gengiva e a porção mais apical sondável da bolsa/sulco foi medida em milímetros e arredondada para o milímetro mais próximo;
- e. Sangramento à Sondagem: foi registrada a presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento após 30 segundos transcorridos da sondagem;
- f. Nível de Inserção Clínica (NIC): registrada a distância entre a junção amelocementária e o ponto mais apical da bolsa ou sulco periodontal.

Todos os participantes que apresentaram qualquer necessidade de tratamento odontológico receberam encaminhamento para atendimento na Faculdade de Odontologia da UFRGS, no Sistema Único de Saúde (SUS) ou foram referenciados a seu dentista.

➤ Coleta Sanguínea

A coleta sanguínea foi realizada por um profissional treinado e capacitado do Centro de Pesquisa Clínica do HCPA. Foram coletados 15 ml de sangue de uma veia da região anticubital, com o paciente em jejum de 4 horas. As amostras sanguíneas foram mantidas em isopor térmico e imediatamente levadas para centrifugação e congelamento.

➤ Centrifugação e Armazenamento das Amostras

As amostras salivares e sanguíneas foram levadas ao Laboratório de Análises Moleculares e Proteínas (UAMP) do HCPA, onde o sangue foi centrifugado a 5000 rpm, a 4°C, por cinco minutos. O soro sanguíneo foi então aliquoteado, colocado em 3 tubos de eppendorf e estocado em freezer a -80°C para posterior avaliação dos biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo.

As amostras de saliva foram centrifugadas a 4000g, durante 10 minutos, a 4°C para remoção de detritos (12, 13, 83). O sobrenadante foi transferido para dois tubos de eppendorf, armazenados congelados a -80°C até o processamento das amostras.

➤ Análise do Estresse Oxidativo

Foram avaliados marcadores de estresse oxidativo em dois fluidos corporais: sangue e saliva. Inicialmente, foram analisados dois biomarcadores: total de antioxidação e grupos tióis/sulfidrilas, sendo que está prevista a análise futura do total de oxidação (79) e do dano proteico (níveis de carbonilas) (115, 116) nas mesmas amostras.

A mensuração da antioxidação total foi através do método FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*), um ensaio que se baseia na habilidade dos antioxidantes presentes na amostra de transformar íons Ferro III (férico) em Fe II (ferroso) na presença do reagente TPTZ (*Tripyridyl-s-Triazine*). Como resultado, tem-se o complexo de coloração azulada Fe II – TPTZ, cuja absorvância máxima ocorre em 593nm. Quanto mais intensa a coloração, maior a quantidade de antioxidantes. Os resultados foram expressos em nmol/ml (88).

Para avaliação dos tióis/sulfidrilas, foi utilizada a metodologia de Riener (117). Cada amostra foi misturada com PBS e tampão Tris/EDTA, a pH 8 em microplaca. Após a leitura da absorvância basal (412nm), as amostras foram reagidas com 5,5'-dithiobis-2-ácido nitrobenzoico (DTNB) em etanol por uma hora. Após, as amostras foram lidas novamente e a leitura basal foi descontada. Esses valores foram comparados com os valores obtidos em uma curva padrão, feita a partir de concentrações conhecidas de sulfidrilas. Os resultados foram expressos como nmol –SH/mg de proteína, conforme anteriormente descrito (117), sendo que foi realizada a mensuração prévia da quantidade de proteínas na amostra (118).

Dados de Prontuários

Dados referentes a variáveis médicas foram obtidos pela análise do prontuário hospitalar, de acordo com autorização contida no TCLE. Tais dados incluíam tempo de acompanhamento, histórico médica, parâmetros de função renal, medicações utilizadas, dados antropométricos, comorbidades, dentre outros. Todos esses dados faziam parte do acompanhamento rotineiro dos pacientes no Serviço de Nefrologia.

Considerações Éticas

Este protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética Central do HCPA via Plataforma Brasil, sob o parecer nº 1.672.821 (Apêndice III) estando de acordo com a resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde.

Antes de serem convidados a participar do estudo, os indivíduos foram informados dos objetivos, riscos e benefícios, tendo concordado, lido e assinado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Financiamento

Esta pesquisa recebeu financiamento do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, através dos projetos 150319 e 160428.

Análise Estatística

As variáveis demográficas, médicas e comportamentais foram avaliadas através do número absoluto e sua frequência na amostra. Médias das variáveis clínicas periodontais foram geradas para cada indivíduo. A normalidade dos dados foi avaliada através de histogramas e do teste de Shapiro-Wilk. Dados que não seguiram padrões de normalidade foram analisados com estatística não paramétrica ou foram transformados em log de base 10 e modelos lineares foram aplicados.

O desfecho primário do presente estudo foi o estresse oxidativo avaliado a partir de três variáveis dependentes (sulfidrilas em soro, FRAP em soro e FRAP em saliva). Dessas variáveis, FRAP na saliva apresentou distribuição assimétrica e foi transformada em logaritmo na base 10 para a aplicação de testes paramétricos e modelos lineares.

As variáveis de exposição principais foram compostas por descritores periodontais, sendo eles: presença de periodontite grave segundo a classificação de Eke et al. (presença de 2 ou mais sítios interproximais com $PI \geq 6\text{mm}$, não no mesmo dente, e pelo menos 1 sítio interproximal com $PS \geq 5\text{mm}$) (102); profundidade de sondagem média de todos os sítios; e perda de inserção clínica média de todos os sítios.

Outras variáveis independentes que podem atuar como preditoras de doença renal e como confundidoras da associação entre DP e doença renal foram: idade, sexo, nível socioeconômico, realização de atividade física regular, estágio de DRC, uso de hipoglicemiante/insulina, níveis de PCR-US, e categoria de IMC.

Para caracterização socioeconômica e nível educacional, foi utilizado o Critério de Classificação Econômica Brasil (119). Foram aplicadas perguntas sobre bens domésticos, grau de escolaridade do chefe da família e acesso a serviços públicos. A soma das respostas dos indivíduos gerou uma categorização em nível socioeconômico baixo (classes D-E), médio (classe C) e alto (classes A e B). O nível educacional foi acessado através da escolaridade do chefe de família. Os participantes foram classificados em nível educacional baixo (até 4ª série do ensino fundamental incompleta), médio (4ª série do ensino fundamental até ensino médio incompleto) e alto (a partir do ensino médio completo).

A realização de atividade física regular, de acompanhamento nutricional e os dados de peso e altura utilizados para cálculo de Índice de Massa Corporal (IMC) foram auto reportados. Foi considerada atividade física regular aquela realizada por pelo menos 30 minutos, 5 dias por semana (120). O IMC foi calculado através da divisão do peso do indivíduo pela sua altura elevada ao quadrado, gerando categorizações previamente determinadas como peso normal ou eutrófico, sobrepeso e obesidade (121).

O hábito de fumar foi auto reportado. Devido ao reduzido número de fumantes na amostra ($n=9$), foi utilizada também a exposição ao fumo durante toda a vida, em *packyears* (pacotes de cigarro/ano). Os participantes foram classificados como nunca fumantes, fumantes moderados (menos de 20 *packyears*) e fumantes pesados (a partir de 20 *packyears*).

A proteína C-reativa ultrasensível (PCR-US) foi dicotomizada com ponto de corte em 3mg/dl (122). Para hemoglobina glicada (HbA_{1c}), o ponto de corte foi 6,5% (123). Para verificar a presença de outras patologias associadas à doença renal crônica e a possível interferência nas análises, utilizou-se o Índice de Comorbidades de Charlson (124), que avalia a quantidade de comorbidades e gera um valor numérico. Realizou-se a divisão em três estratos, conforme previamente descrito (125).

Associações entre a condição periodontal e os diferentes marcadores de estresse oxidativo foram avaliadas através de modelos de regressão linear múltipla, ajustando para fatores de risco importantes para doença renal crônica e doença periodontal, bem como possíveis interferentes no estresse oxidativo. A modelagem seguiu uma estratégia proposital (*purposeful approach*) de Hosmer e Lemeshow (126). Modelos univariados foram aplicados e variáveis independentes apresentando p-valor <0,25 foram carregadas para um modelo multivariado. Para a manutenção no modelo multivariado, foram levados em consideração efeito confundidor e valores de $p < 0,05$. Variáveis que apresentassem $p < 0,05$ permaneciam

no modelo. Efeito confundidor foi avaliado com a remoção e inclusão de variáveis e avaliação da modificação da estimativa de associação de outras variáveis >20%. A unidade analítica foi o indivíduo e o nível de significância foi estabelecido em 5%. As análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico STATA versão 14.

RESULTADOS

A seleção da amostra ocorreu no Serviço de Nefrologia do HCPA de acordo com critérios de elegibilidade e inclusão pré-estabelecidos. A figura 1 demonstra o número de indivíduos avaliados em cada estágio de seleção, bem como os motivos de não serem elegíveis ou passíveis de inclusão no estudo.

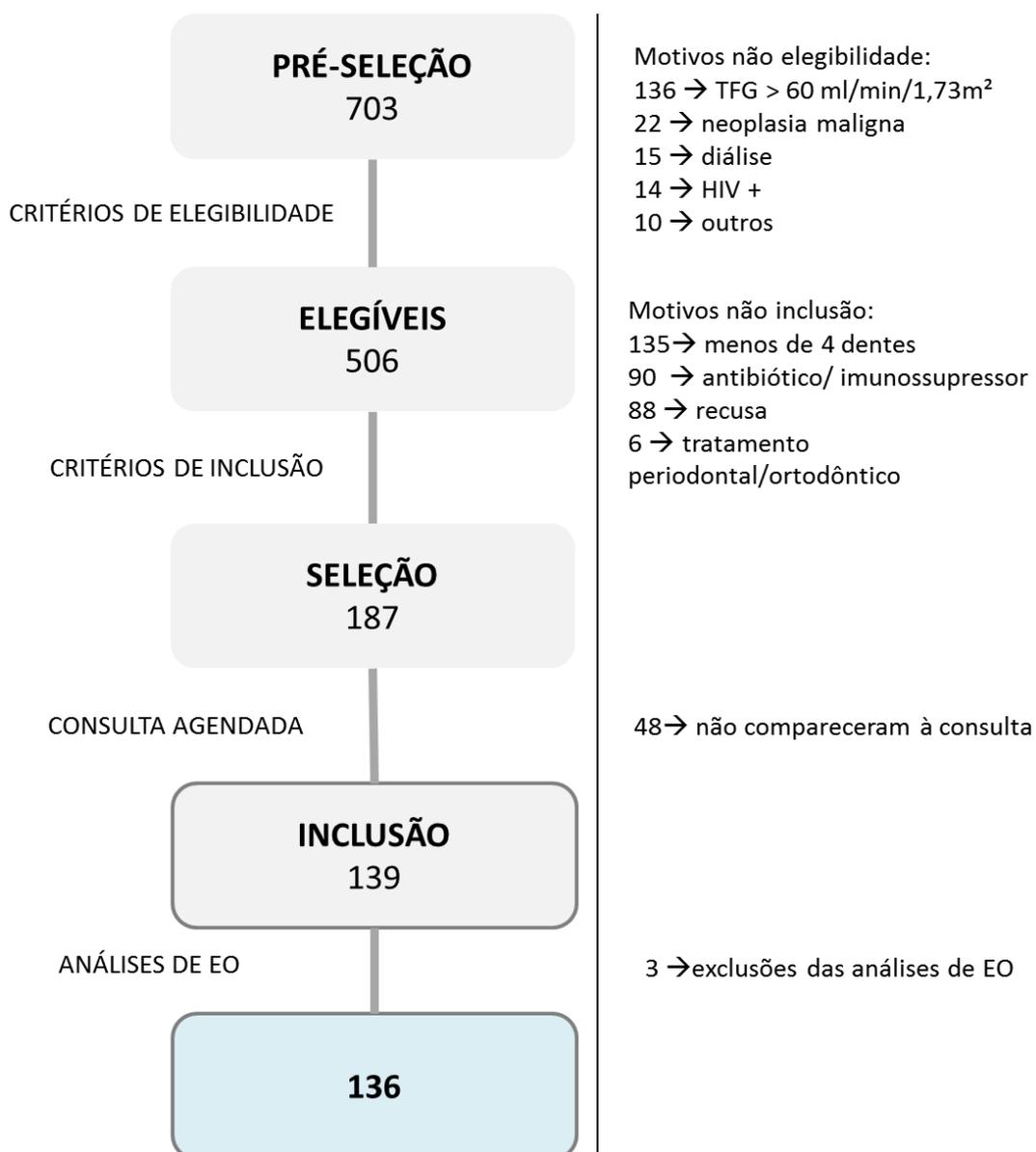


Figura 1. Fluxograma de seleção da amostra

Entre setembro de 2015 e agosto de 2016, foram avaliados 703 indivíduos quanto à elegibilidade na pesquisa, sendo que 198 não perfizeram os critérios de elegibilidade. Dos 506 indivíduos elegíveis restantes, verificou-se a adequação aos critérios de inclusão, e 319 (63%) não preencheram estes critérios: 135 (27%) apresentavam menos de 4 dentes ou eram edêntulos, 90 (18%) utilizaram antibiótico ou imunossupressor nos 6 meses anteriores, 88 (17%) recusaram a participação e 6 (1%) passaram por tratamento periodontal recente ou utilizavam aparelho ortodôntico. Dentre os indivíduos que se enquadraram em todos os critérios e aceitaram participar da pesquisa, 48 não compareceram à consulta agendada, portanto a amostra final consistiu em 139 pacientes com DRC. Dos 139 pacientes incluídos e examinados, 3 apresentaram níveis extremamente alterados dos marcadores de EO avaliados e foram excluídos da análise, resultando em uma amostra com 136 indivíduos.

A amostra foi predominantemente composta por indivíduos do sexo masculino (62%), não fumantes (83%), com idade média de 60 anos. O tempo de acompanhamento médio no Serviço de Nefrologia foi de 4,5 anos. A média da TFG foi de 24 ml/min/1,73m² e a distribuição nos estágios 3, 4 e 5 de DRC foi de 29%, 48% e 23%, respectivamente.

A Tabela 1 apresenta os parâmetros periodontais da amostra. A média de dentes nesses pacientes foi de 17,1. Observou-se altos índices de placa visível (70%) e sangramento marginal (55%), assim como a maior parte dos sítios com sangramento à sondagem (69%). As médias de profundidade de sondagem e perda de inserção clínica foram de 2,6mm e 3,8mm, respectivamente. Segundo os critérios propostos pela Academia Americana de Periodontia(102), a maior parte da amostra apresentou periodontite (68%), sendo que 48% apresentaram periodontite grave.

Tabela 1. Dados descritivos dos parâmetros clínicos periodontais na amostra.

Parâmetros periodontais	Valores na amostra
Dentes presentes (n)	17,1 (\pm 7,4)
Índice de placa visível (%)	70% (\pm 21%)
Índice de sangramento gengival (%)	55% (\pm 30%)
Profundidade de sondagem (mm)	2,6 (\pm 0,6)
Perda de inserção clínica (mm)	3,8 (\pm 1,4)
Sangramento à sondagem (%)	69% (\pm 21%)
Periodontite (n/%)*	93 (68%)
Periodontite grave (n/%)*	65 (48%)
\geq 2 dentes com PS \geq 5mm (n/%)	62 (46%)
\geq 2 dentes com PI \geq 6mm (n/%)	83 (61%)

Dados reportados em números absolutos, frequências (%) ou médias \pm desvio padrão.

*Critério CDC-AAP (102).

Na Tabela 2 constam os modelos de regressão logística multinomial para a associação entre a condição periodontal e estágio da DRC, resultados principais do projeto maior, que demonstram a associação entre as duas doenças. No modelo univariado, ter periodontite grave aumentou em, aproximadamente, 2,8 e 3,4 vezes a chance de estar nos estágios 4 e 5 da DRC, respectivamente, quando comparado a estar no estágio 3 (referência). Além disso, ter dois ou mais dentes com perda de inserção maior ou igual a 6 mm aumentou em, aproximadamente, 4 vezes a chance de estar no estágio 5 da DRC.

Quando ajustados para sexo, fumo, suplementação de vitamina D, atividade física e tempo de tratamento nefrológico, o fato de ter periodontite grave aumentou em 2,8 e 3,4 vezes a chance de estar nos estágios 4 e 5 da DRC, respectivamente, quando comparado a estar no estágio 3 (referência). Ter dois ou mais dentes com perda de inserção maior ou igual a 6 mm aumentou em 3,9 vezes a chance de estar no estágio 5 da DRC.

Tabela 2. Modelos de regressão logística multinomial para associação entre condição periodontal e estágio da doença renal crônica.

	Estágio 4		Estágio 5	
	RRR	IC95%	RRR	IC95%
MODELOS UNIVARIADOS				
Modelo 1				
Periodontite grave	2,88†	1,25 – 6,62	3,41†	1,27 – 9,09
Modelo 2				
2+ dentes com PS \geq 5mm	1,80	0,80 – 4,05	1,86	0,72 – 4,82
Modelo 3				
2+ dentes com PI \geq 6mm	1,86	0,84 – 4,11	3,95†	1,39 – 11,24
MODELOS MULTIVARIADOS*				
Modelo 1				
Periodontite grave	2,83†	1,15 – 6,92	3,39†	1,21 – 9,49
Modelo 2				
2+ dentes com PS \geq 5mm	1,03	0,84 – 4,87	2,28	0,82 – 6,37
Modelo 3				
2+ dentes com PI \geq 6mm	1,90	0,79 – 4,59	3,90†	1,30 – 11,67

*Ajustado para sexo, fumo, suplementação de vitamina D, atividade física e tempo de tratamento nefrológico.

† $p < 0,05$.

A Tabela 3 apresenta os valores médios (\pm desvio-padrão) dos níveis séricos e salivares de FRAP e séricos de sulfidril de acordo com variáveis médicas, demográficas e comportamentais. A maioria dos parâmetros avaliados não esteve relacionada a alterações significativas nos níveis de estresse oxidativo nesta amostra. Dentre as variáveis que alteraram os resultados, a realização de atividade física regular melhorou os níveis de sulfidrilas no soro e de antioxidação em saliva. A idade influenciou apenas o resultado do FRAP salivar, sendo que quanto mais velho o indivíduo, maiores os níveis de antioxidação encontrados. Houve maiores níveis de FRAP no soro de indivíduos com proteína C-reativa ultrasensível aumentada (PCR-US). E, por fim, ter um fluxo salivar maior, reduziu a antioxidação na saliva dos pacientes com doença renal crônica.

Tabela 3. Distribuição das variáveis médicas, demográficas e comportamentais na amostra e médias (\pm desvio-padrão) dos níveis séricos e salivares de FRAP e séricos de sulfidrila de acordo com as mesmas variáveis (n=136).

	n/%	FRAP Soro	p*	FRAP Saliva	p**	Sulfidrila Soro	p*
Idade							
20-49 anos	30 (22%)	1714,8 (\pm 407,2)		908,2 (\pm 436,9)		6,6 (\pm 2,0)	
50-64 anos	51 (38%)	1754,2 (\pm 389,6)		1257,4 (\pm 729,2)†		6,2 (\pm 1,5)	
\geq 65 anos	55 (40%)	1759,0 (\pm 340,5)	0,86	1317,6 (\pm 659,0)†	0,02	6,2 (\pm 1,8)	0,30
Sexo							
Masculino	84 (62%)	1767,1 (\pm 347,0)		1138,1 (\pm 652,4)		6,4 (\pm 1,9)	
Feminino	52 (38%)	1715,7 (\pm 411,1)	0,44	1312,4 (\pm 667,9)	0,10	5,9 (\pm 1,5)	0,08
Nível educacional							
Baixo	25 (18%)	1661,1 (\pm 378,1)		1028,3 (\pm 493,7)		6,2 (\pm 1,9)	
Médio	64 (47%)	1791,3 (\pm 364,6)		1200,7 (\pm 673,6)		6,4 (\pm 1,8)	
Alto	47 (35%)	1733,7 (\pm 378,1)	0,32	1304,0 (\pm 712,8)	0,39	6,14 (\pm 1,6)	0,12
Nível socioeconômico							
Baixo	32 (23%)	1637,9 (\pm 321,2)		1096,5 (\pm 641,8)		6,2 (\pm 1,9)	
Médio	81 (60%)	1776,3 (\pm 355,8)		1174,6 (\pm 624,6)		6,2 (\pm 1,8)	
Alto	23 (17%)	1753,1 (\pm 438,5)	0,30	1358,8 (\pm 755,2)	0,41	6,3 (\pm 1,7)	0,95
Atividade física regular							
Não	110 (81%)	1775,5 (\pm 374,0)		1272,2 (\pm 675,5)		6,0 (\pm 1,7)	
Sim	26 (19%)	1628,8 (\pm 346,4)	0,07	919,2 (\pm 517,2)†	0,01	7,1 (\pm 1,8)	0,003
Acompanhamento nutricional							
Não	85 (62%)	1725,0 (\pm 381,6)		1216,3 (\pm 714,2)		6,3 (\pm 1,9)	
Sim	51 (38%)	1784,7 (\pm 360,1)	0,37	1186,9 (\pm 574,4)	0,83	6,2 (\pm 1,5)	0,80
Tempo de acompanhamento da DRC							
< 5 anos	85 (62%)	1772,1 (\pm 42,7)		1189,9 (\pm 692,7)		6,2 (\pm 1,7)	
\geq 5 anos	51 (38%)	1706,4 (\pm 46,7)	0,32	1229,4 (\pm 611,4)	0,45	6,2 (\pm 1,8)	0,93
Estágio de DRC							
3	39 (29%)	1658,7 (\pm 366,1)		1135,0 (\pm 641,0)		6,3 (\pm 1,7)	
4	65 (48%)	1721,9 (\pm 365,3)		1196,1 (\pm 636,8)		6,4 (\pm 2,0)	
5	32 (23%)	1907,6 (\pm 354,5)†	0,01	1307,3 (\pm 739,5)	0,68	5,8 (\pm 1,3)	0,26

Índice de massa corporal								
Normal	35 (26%)	1716,7 (±370,7)		1043,7 (±545,9)		6,1 (±1,7)		
Sobrepeso	54 (40%)	1727,8 (±373,1)		1158,1 (±711,8)		6,3 (±1,9)		
Obeso	47 (34%)	1792,9 (±375,8)	0,58	1378,3 (±653,2)	0,05	6,3 (±1,8)		0,91
Fumo								
Nunca fumante	80 (59%)	1730,3 (±365,0)		1188,4 (±608,7)		6,2 (±1,8)		
Fumante moderado	26 (19%)	1825,4 (±361,0)		1340,3 (±752,4)		6,5 (±1,9)		
Fumante pesado	47 (22%)	1725,7 (±403,4)	0,49	1130,8 (±718,5)	0,37	6,2 (±1,7)		0,62
Uso de estatinas								
Não	63 (46%)	1782,0 (±398,8)		1100,8 (±654,3)		6,3 (±1,9)		
Sim	73 (54%)	1717,7 (±347,6)	0,32	1294,4 (±658,7)	0,06	6,2 (±1,7)		0,90
Uso de insulina/hipoglicemiante								
Não	98 (72%)	1779,8 (±393,8)		1204,3 (±654,0)		6,2 (±1,8)		
Sim	38 (28%)	1664,1 (±298,3)	0,10	1205,8 (±689,1)	0,95	6,3 (±1,6)		0,80
Uso de alopurinol								
Não	104 (76%)	1750,7 (±386,0)		1186,9 (±663,2)		-		-
Sim	32 (24%)	1736,9 (±328,6)	0,85	1262,6 (±662,5)	0,45	-		-
Proteína C-reativa								
< 3mg/dl	61 (45%)	1670,1 (±341,0)		1102,3 (±575,9)		6,5 (±1,7)		
≥ 3mg/dl	75 (55%)	1810,4 (±386,6)†	0,02	1288,0 (±716,5)	0,20	6,0 (±1,8)		0,13
Hemoglobina glicada								
< 6,5%	94 (60%)	1772,2 (±378,9)		1154,3 (±619,2)		6,3 (±1,9)		
≥ 6,5%	42 (31%)	1692,1 (±354,7)	0,25	1317,6 (±742,8)	0,29	6,1 (±1,5)		0,64
Índice de Charlson								
Até 2	41 (30%)	1759,3 (±388,3)		1161,1 (±692,5)		6,5 (±2,0)		
3-4	60 (44%)	1695,3 (±382,0)		1171,8 (±677,7)		6,2 (±1,6)		
≥5	35 (26%)	1823,1 (±329,5)	0,26	1312,1 (±599,6)	0,27	6,0 (±1,6)		0,50
Fluxo salivar								
<0,5 ml/min	95 (70%)	-	-	1417,0 (±651,5)		-		-
≥0,5 ml/min	41 (30%)	-	-	712,8 (±351,9)†	<0,001	-		-

*Teste t ou ANOVA, quando aplicável.

**Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis, quando aplicável.

† p<0,05 comparado à categoria de referência (primeira categoria).

Modelos de regressão linear ajustando para variáveis confundidoras foram utilizados para avaliar a associação entre a condição periodontal e a concentração sérica de FRAP e sulfidrilas (tabela 4). Três modelos, usando a definição de periodontite grave, média de profundidade de sondagem (PS) e média de perda de inserção (PI) média foram utilizados. Os níveis séricos de sulfidrilas estiveram significativamente associados à profundidade de sondagem média, mesmo após ajuste para sexo e atividade física, sendo que o valor do coeficiente beta foi de 0,41, o que demonstra que cada 1 mm de alteração na média de PS foi capaz de aumentar 0,41 nmol/mL nos valores do FRAP. Nenhum outro descritor periodontal esteve significativamente associado aos níveis séricos de FRAP ou sulfidrilas.

Tabela 4. Modelos de regressão linear para associação entre condição periodontal e concentração sérica de FRAP e sulfidrilas.

	Beta	IC95%	p
FRAP*			
Modelo 1			
Periodontite grave	-66,3	-189,3 – 56,6	0,29
Modelo 2			
PS média	-52,1	-150,6 – 46,3	0,30
Modelo 3			
PI média	-12,7	-54,6 – 29,1	0,55
SULFIDRILA**			
Modelo 1			
Periodontite grave	0,18	-0,40 – 0,76	0,53
Modelo 2			
PS média	0,41	0,01 – 0,81	0,04 †
Modelo 3			
PI média	-0,03	-0,21 – 0,15	0,75

*Ajustado para nível socioeconômico, uso de insulina/hipoglicemiante, estágio de DRC, IMC e PCR-US.

**Ajustado para atividade física e sexo.

† p<0,05

Em relação aos níveis salivares de FRAP, os mesmos modelos de regressão linear foram utilizados (tabela 5). Quando ajustados para idade, nível socioeconômico, IMC, atividade física e

fluxo salivar, nenhum dos descritores periodontais esteve significativamente associado aos níveis salivares de FRAP.

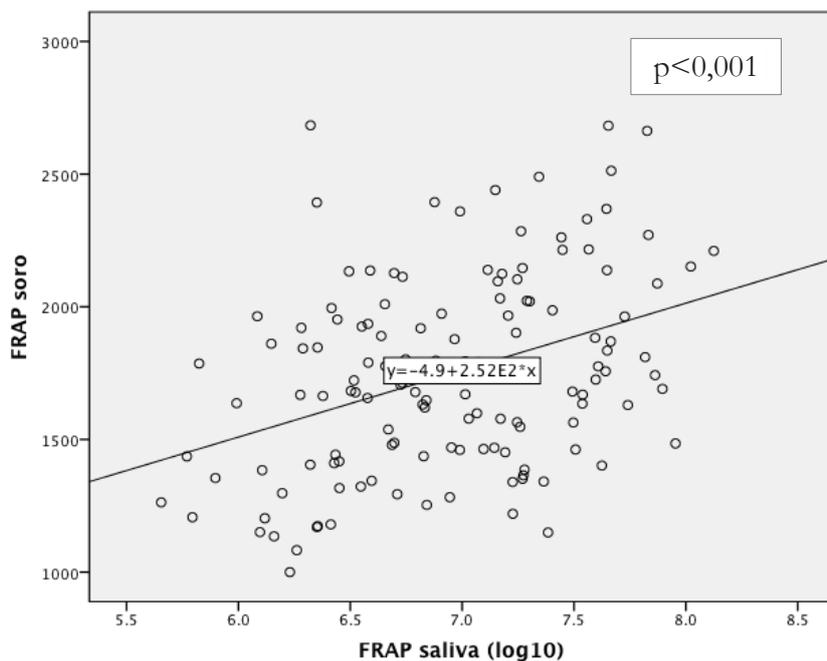
Tabela 5. Modelos de regressão linear para associação entre condição periodontal e concentração de FRAP na saliva (log na base 10).

	Beta	IC95%	p
FRAP salivar*			
Modelo 1			
Periodontite grave	-0,06	-0,22 – 0,11	0,49
Modelo 2			
PS média	-0,04	-0,17 – 0,10	0,61
Modelo 3			
PI média	0,004	-0,07 – 0,07	0,91

*Ajustado para idade, nível socioeconômico, IMC, atividade física e fluxo salivar.

Para verificar se os níveis de FRAP no soro e saliva estariam correlacionados, foi realizada uma análise adicional. O Gráfico 1 ilustra a dispersão dos dados correlacionando concentração salivar e sérica de FRAP. O modelo de regressão linear multivariado da predição de FRAP no soro por parte da concentração de FRAP na saliva (transformado em log de base 10) incluiu nível socioeconômico, IMC, uso de insulina/hipoglicemiante e estágio da DRC. O coeficiente foi de 217,2 (erro padrão de 58,6) com $p < 0,001$ e R^2 ajustado igual a 0,23. Houve, portanto, correlação dos níveis de FRAP encontrados na saliva e no soro.

Gráfico 1. Correlação entre os níveis de FRAP em soro e saliva.



DISCUSSÃO

O estudo de maior magnitude, do qual esta dissertação deriva, apresentou como objetivo principal a investigação de uma possível associação entre a doença renal crônica e a doença periodontal. Como achado mais relevante, encontrou-se, de fato, uma associação importante entre ter periodontite grave (bem como ter mais de dois sítios proximais com $PI \geq 6$ mm) com estar em estágios mais avançados de DRC, ou seja, a periodontite foi considerada um preditor de risco para a condição renal de pacientes pré-dialíticos. Este dado está de acordo com diversos estudos encontrados na literatura (8, 33, 34, 61-63, 65), entretanto, foi o primeiro a comparar diferentes estágios de DRC pré-dialítica entre si.

Este estudo avaliou marcadores séricos e salivares de estresse oxidativo em uma amostra de 136 pacientes com diferentes níveis de DRC em tratamento por aproximadamente 4,5 anos em um serviço de atenção terciária. Observou-se uma alta prevalência de doença periodontal na amostra, sendo que a profundidade de sondagem média esteve associada aos níveis séricos de sulfidrilas. Além disso, os níveis de antioxidação em saliva estiveram significativamente correlacionados aos seus níveis séricos. Até onde os autores têm conhecimento, esse é o primeiro estudo que avalia o impacto da doença periodontal sobre os níveis de estresse oxidativo em pacientes renais crônicos.

Foram avaliados dois marcadores de estresse oxidativo em amostras sanguíneas e salivares, antioxidação total e tióis/sulfidrilas, além de estarem previstas análises de dois marcadores adicionais: oxidação total e carbonilas. A mensuração de sulfidrilas na saliva desta amostra não foi possível, pois não houve detecção, mesmo após a utilização de maiores volumes salivares (até 160 µl). Acredita-se que essa dificuldade de detectar -SH na saliva, tenha resultado da pequena quantidade de proteínas – nas quais estão as sulfidrilas - cuja concentração seria de aproximadamente 3% em comparação com o sangue (127). Este fato por si só já é um resultado interessante, visto que alguns marcadores de oxidação e antioxidação se manifestam normalmente na saliva. Tendo em vista esse achado, foram reportadas apenas as análises séricas de sulfidrilas, além dos valores da antioxidação total sérica e salivar.

Comparações diretas dos resultados deste estudo com a literatura não são possíveis em função do ineditismo. De maneira geral, a literatura demonstra que, tanto a doença periodontal quanto a DRC, quando avaliadas isoladamente, aumentam significativamente os níveis de diferentes marcadores de EO (13, 108). No presente estudo, a profundidade de sondagem média foi o único descritor de doença que demonstrou estar associado com os valores de sulfidrilas, mesmo após ajustes. A profundidade de sondagem (PS) é uma medição relacionada à inflamação periodontal, motivo que poderia justificar a alteração encontrada nos valores de sulfidrilas, uma vez que há relação entre inflamação e estresse oxidativo (75). Todavia, esperava-se que quanto maior a PS, menores níveis de sulfidrilas fossem encontrados, e justamente o contrário ocorreu. Na literatura, a procura de explicações demonstrou que a comparação deste dado é particularmente difícil, uma vez que não foram encontrados outros estudos analisando os níveis de sulfidrilas em indivíduos com doença periodontal. Tanto as revisões de literatura quanto os estudos clínicos de periodontia não costumam incluir este marcador em suas análises (85, 128). A importância da mensuração desse marcador se justifica pelo fato de que a sulfidrilas demonstra não apenas antioxidação e defesa contra o EO, mas também pode ser um marcador de dano proteico reversível, em função do dinamismo das reações de oxirredução, sendo comumente utilizada em estudos de DRC. Outras áreas da saúde costumam avaliar as sulfidrilas, principalmente associada à mensuração de carbonilas, expressando danos proteicos (52, 53). As sulfidrilas foram detectadas apenas em amostras séricas no presente estudo.

Os parâmetros periodontais não estiveram associados a diferenças significativas nos níveis de antioxidação total, avaliada pelo método FRAP, seja em saliva ou em soro. Apesar de inúmeros estudos em periodontia avaliarem os níveis de antioxidação total, a utilização da

metodologia FRAP é rara (129, 130). O único encontrado que avaliou a relação do FRAP com a doença periodontal incluiu uma amostra de 129 indivíduos, mas utilizou o protocolo de exame CPITN (131), o qual apresenta diversas limitações já conhecidas (132) e verificou os níveis de FRAP apenas na saliva. Os autores também não encontraram associação da doença periodontal com os valores de antioxidação na amostra (130). Dentre os estudos que avaliaram a antioxidação total a partir de metodologias distintas do FRAP, Brock e colaboradores não encontraram relação dos seus níveis séricos e salivares com a DP, em uma amostra reduzida de 17 indivíduos com periodontite e 17 controles (96). Por outro lado, a maior parte dos estudos, verificou redução da antioxidação frente à presença de periodontite, tanto através de avaliações enzimáticas (17, 20) quanto não enzimáticas (13, 15). A avaliação da antioxidação é um desafio devido a diferentes metodologias de mensuração, tecidos ou fluidos avaliados, biomarcadores e também pela oscilação dos seus níveis, tendo em vista o dinamismo dos processos biológicos (23).

Quanto à relação da doença renal crônica com as sulfidrilas, a presente avaliação não observou diferença significativa nos seus níveis séricos ao comparar diferentes estágios de DRC. Não foi possível traçar um paralelo direto com a literatura, pois os estudos de nefrologia que avaliaram este mesmo marcador não compararam diferentes estágios de DRC crônica pré-dialítica entre si, utilizando apenas comparações com grupos controle ou grupos em diálise (52, 53, 107). A comparação entre extremos – diálise e ausência de DRC – provavelmente é capaz de demonstrar maiores diferenças para qualquer parâmetro ou marcador avaliado, entretanto, a extrapolação dos resultados limita-se a parcela reduzida da população avaliada.

Os estágios de DRC estiveram relacionados a diferenças significativas nos valores do FRAP sérico, sendo que maiores valores de antioxidação foram encontrados no estágio 5, em comparação com o estágio 3. Este resultado está de acordo com outros estudos que avaliaram a antioxidação total em doentes renais crônicos, apesar de terem utilizado metodologias distintas (22, 108). Dounousi e colaboradores encontraram relação inversa da antioxidação com a TFG ($r = -0,345$, $p < 0,01$) e mostraram que estágios mais avançados de DRC corresponderam a maiores níveis de antioxidação total (22). Tais resultados podem ser decorrentes da tentativa do hospedeiro de contrabalançar maior oxidação, apesar desse mecanismo não ter sido avaliado nos estudos previamente citados.

Outro objetivo do trabalho foi verificar se haveria correlação entre níveis de EO medidos em soro e em saliva. Embora diversos estudos tenham avaliado níveis salivares e sanguíneos de marcadores de EO (12, 13, 17, 83, 133-135), poucos correlacionaram os valores obtidos entre os

fluidos. Na amostra deste trabalho, observou-se que os níveis de antioxidação na saliva verificados pelo FRAP foram capazes de prever os níveis séricos desses marcadores ($R^2=0,23$, $p<0,001$). Este foi o primeiro estudo encontrado na literatura a correlacionar dados obtidos em amostras salivares e amostras séricas em indivíduos com diferentes graus de DRC pré-dialítica. O fato de a saliva expressar marcadores de EO de maneira correlacionada com os níveis séricos é de extrema importância, pois sugere que um desequilíbrio oxidativo resultante de problemas bucais poderia induzir aumento do estado oxidativo sistêmico. A verificação de que uma doença bucal seria capaz de alterar níveis de marcadores sanguíneos de um indivíduo demonstraria a repercussão sistêmica desta doença ou condição (85), abrindo-se um grande e inexplorado campo de investigação (136). Nos resultados deste estudo, apesar da correlação entre os níveis de antioxidação total medidos em saliva e soro, a maioria dos descritores de doença periodontal não alterou significativamente os marcadores de EO avaliados, tanto local, quanto sistemicamente.

Assim como no presente estudo, Baltacioglu e colaboradores também encontraram correlação significativa entre marcadores de EO medidos em soro e saliva, sendo que foram avaliados os níveis de oxidação total e antioxidação total, medida através do ensaio de redução de ABTS• (13) de 98 indivíduos com e sem periodontite. Önder e colaboradores investigaram a correlação entre três medidas de dano oxidativo – 8-OHdG, malondialdeído e um tipo de hidroperóxido lipídico – não encontrando correlações entre esses marcadores em 51 indivíduos com e sem periodontite (137). Estudos fora do âmbito da periodontia também correlacionaram níveis salivares e sanguíneos de EO. Deminice e colaboradores compararam quatro biomarcadores de EO em plasma e saliva – ácido úrico, TBARS, hidroperóxidos lipídicos e glutathione (GSH) – sendo que apenas os valores de ácido úrico apresentaram correlação ($r=0,51$, $p<0,05$) em uma amostra de apenas 10 indivíduos do sexo masculino submetidos a exercícios físicos de hipertrofia (138). Lawaf e colaboradores avaliaram a correlação da antioxidação total em plasma e saliva, medida pelo ensaio de redução de ABTS•, em uma amostra de 84 indivíduos com desordens temporomandibulares, mas não encontraram correlação (139). Wang e colaboradores, em uma amostra de 237 chineses, demonstraram correlação entre os níveis de carbonilas medidos em saliva e plasma ($r=0,44$, $p<0,001$) (140).

Além do uso como meio diagnóstico local, a saliva cada vez mais é utilizada como um meio diagnóstico sistêmico em comparação com a coleta sanguínea. Apresenta diversas vantagens, como a simplicidade de obtenção das amostras, a aceitação do paciente, a economia, a diminuição de riscos, a conveniência, e a facilidade de utilização em estudos com maiores

amostras, sendo um fluido de análise altamente promissor (98, 136). O método de coleta salivar total não estimulada é mais indicado por refletir o fluxo salivar basal dos indivíduos, presente na maior parte do dia. Além disso, a não estimulação evita a produção de possíveis interferentes nos resultados salivares (98, 141).

O presente trabalho apresenta algumas limitações que devem ser consideradas, incluindo o delineamento transversal, que não permite a demonstração de causalidade. Futuras análises nesta mesma amostra, com acompanhamento longitudinal ou a realização de um estudo de intervenção, poderão auxiliar na elucidação das questões levantadas. Outra limitação consiste a avaliação somente de antioxidação total e sulfidrilas, fato que impede uma visão mais abrangente de todo o quadro oxidativo nesses pacientes. Entretanto, já estão previstas mais duas avaliações de EO – carbonilas e status total oxidativo – possibilitando uma interpretação menos enviesada da questão (94).

Como ponto positivo, ressalta-se o ineditismo: este é o primeiro estudo a avaliar um possível impacto da doença periodontal sobre o EO em nefropatas. Os estudos de associação e de intervenção que investigam a relação entre doença periodontal e DRC não costumam investigar os mecanismos biológicos envolvidos, o que fundamenta a importância de realizar trabalhos nessa área. Além disso, destaca-se que diversos cuidados metodológicos estiveram presentes, tais como: um rigoroso controle para variáveis que poderiam interferir sobre o desfecho, cuidado realizado tanto na seleção da amostra, quanto nos ajustes presentes na análise estatística, o uso de protocolo de exame periodontal completo com examinadores treinados e calibrados, que evita subestimação da doença periodontal na amostra (132) e, também, vieses de aferição, a realização de coleta salivar total não estimulada, as avaliações em duplicata dos marcadores de estresse oxidativo de toda a amostra, bem como a coleta de dois fluidos corporais, incluindo a saliva. A posterior análise de dois marcadores adicionais de estresse oxidativo e de biomarcadores inflamatórios nas mesmas amostras sanguíneas e salivares é outro aspecto importante a ser ressaltado, pois oferecerá um quadro mais claro e amplo dos mecanismos de plausibilidade biológica envolvidos na associação da doença periodontal com a doença renal crônica.

CONCLUSÃO

A presença de periodontite foi capaz de atuar como preditora de risco para pior função renal, não alterando, entretanto, os biomarcadores séricos e salivares de estresse oxidativo em doentes renais crônicos. O único descritor periodontal associado a alterações oxidativas nesta amostra foi a profundidade de sondagem, que esteve relacionada a maiores níveis séricos de sulfidrilas. Os níveis séricos e salivares de antioxidação total, mensurados através do FRAP, apresentaram correlação significativa em doentes renais crônicos. A análise de outros marcadores oxidativos e de marcadores inflamatórios nessa amostra irá auxiliar na melhor compreensão do impacto da doença periodontal sobre a doença renal crônica e sobre o estresse oxidativo nesses indivíduos.

REFERÊNCIAS

1. USRDS. USRDS annual report: CKD in the general population. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2013.
2. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Official Journal of the International Society of Nephrology. 2013;3(1).
3. Bastos MG, Bregman R, Kirsztajn GM. [Chronic kidney diseases: common and harmful, but also preventable and treatable]. Rev Assoc Med Bras. 2010;56(2):248-53.
4. Bastos MG, Kirsztajn GM. Chronic kidney disease: importance of early diagnosis, immediate referral and structured interdisciplinary approach to improve outcomes in patients not yet on dialysis. J Bras Nefrol. 2011;33(1):93-108.
5. USRDS. USRDS annual data report: Costs of Chronic Kidney Disease. 2013.
6. Levey AS, Stevens LA, Coresh J. Conceptual model of CKD: applications and implications. Am J Kidney Dis. 2009;53(3 Suppl 3):S4-16.
7. Bastos MG, Bregman R, Kirsztajn GM. [Chronic kidney diseases: common and harmful, but also preventable and treatable]. Rev Assoc Med Bras (1992). 2010;56(2):248-53.
8. Fisher MA, Taylor GW, Shelton BJ, Jamerson KA, Rahman M, Ojo AO, et al. Periodontal disease and other nontraditional risk factors for CKD. Am J Kidney Dis. 2008;51(1):45-52.
9. Fisher MA, Taylor GW. A prediction model for chronic kidney disease includes periodontal disease. J Periodontol. 2009;80(1):16-23.
10. Grubbs V, Vittinghoff E, Taylor G, Kritz-Silverstein D, Powe N, Bibbins-Domingo K, et al. The association of periodontal disease with kidney function decline: a longitudinal retrospective analysis of the MrOS dental study. Nephrol Dial Transplant. 2015.
11. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med. 1991;91(3C):31S-8S.
12. Akalin FA, Baltacıoğlu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. J Clin Periodontol. 2007;34(7):558-65.
13. Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, et al. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? J Periodontol. 2014;85(10):1432-41.
14. Baltacıoğlu E, Kehribar MA, Yuva P, Alver A, Atagün OS, Karabulut E, et al. Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. J Periodontol. 2014;85(2):317-26.
15. Konopka T, Król K, Kopeć W, Gerber H. Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2007;55(6):417-22.
16. Baltacıoğlu E, Akalin FA, Alver A, Değer O, Karabulut E. Protein carbonyl levels in serum and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. Arch Oral Biol. 2008;53(8):716-22.
17. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Mittal M, Singh B, Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. J Periodontol. 2014;85(5):713-20.
18. Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. Cell Mol Biol Lett. 2005;10(2):255-64.
19. Ghallab NA, Hamdy E, Shaker OG. Malondialdehyde, superoxide dismutase and melatonin levels in GCF of aggressive and chronic periodontitis patients. Aust Dent J. 2015.
20. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. Eur J Dent. 2009;3(2):100-6.

21. De Vecchi AF, Bamonti F, Novembrino C, Ippolito S, Guerra L, Lonati S, et al. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(8):2524-9.
22. Dounousi E, Papavasiliou E, Makedou A, Ioannou K, Katopodis KP, Tselepis A, et al. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *Am J Kidney Dis*. 2006;48(5):752-60.
23. Tucker PS, Dalbo VJ, Han T, Kingsley ML. Clinical and research markers of oxidative stress in chronic kidney disease. *Biomarkers*. 2013;18(2):103-15.
24. Nunes GLdS. Avaliação da função renal em pacientes hipertensos. 2007;14(3):162-6.
25. Riella MC. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólitos. 5 ed2010.
26. Stevens LA, Levey AS. Measurement of kidney function. *Med Clin North Am*. 2005;89(3):457-73.
27. Levey AS, Cattran D, Friedman A, Miller WG, Sedor J, Tuttle K, et al. Proteinuria as a surrogate outcome in CKD: report of a scientific workshop sponsored by the National Kidney Foundation and the US Food and Drug Administration. *Am J Kidney Dis*. 2009;54(2):205-26.
28. Wu MT, Lam KK, Lee WC, Hsu KT, Wu CH, Cheng BC, et al. Albuminuria, proteinuria, and urinary albumin to protein ratio in chronic kidney disease. *J Clin Lab Anal*. 2012;26(2):82-92.
29. Methven S, MacGregor MS. Empiricism or rationalism: how should we measure proteinuria? *Ann Clin Biochem*. 2013;50(Pt 4):296-300.
30. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.
31. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000. 1997;14:9-11.
32. Flores MF, Montenegro MM, Furtado MV, Polanczyk CA, Rosing CK, Haas AN. Periodontal status affects C-reactive protein and lipids in patients with stable heart disease from a tertiary care cardiovascular clinic. *J Periodontol*. 2014;85(4):545-53.
33. Grubbs V, Plantinga LC, Crews DC, Bibbins-Domingo K, Saran R, Heung M, et al. Vulnerable populations and the association between periodontal and chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(4):711-7.
34. Kshirsagar AV, Moss KL, Elter JR, Beck JD, Offenbacher S, Falk RJ. Periodontal disease is associated with renal insufficiency in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Am J Kidney Dis*. 2005;45(4):650-7.
35. Van Dyke TE. The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1601-8.
36. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1585-91.
37. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2005;76(11 Suppl):2106-15.
38. Moutsopoulos NM, Madianos PN. Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1088:251-64.
39. Lockhart PB, Brennan MT, Thornhill M, Michalowicz BS, Noll J, Bahrani-Mougeot FK, et al. Poor oral hygiene as a risk factor for infective endocarditis-related bacteremia. *J Am Dent Assoc*. 2009;140(10):1238-44.
40. Grubbs V, Plantinga LC, Crews DC, Bibbins-Domingo K, Saran R, Heung M, et al. Vulnerable populations and the association between periodontal and chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(4):711-7.
41. Brotto RS, Vendramini RC, Brunetti IL, Marcantonio RA, Ramos AP, Pepato MT. Lack of Correlation between Periodontitis and Renal Dysfunction in Systemically Healthy Patients. *Eur J Dent*. 2011;5(1):8-18.
42. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis*. 2000;6(3):138-51.
43. Halliwell B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(3):637-44.
44. Koromantzos PA, Makrilakis K, Dereka X, Offenbacher S, Katsilambros N, Vrotsos IA, et al. Effect of non-surgical periodontal therapy on C-reactive protein, oxidative stress, and matrix

metalloproteinase (MMP)-9 and MMP-2 levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled study. *J Periodontol.* 2012;83(1):3-10.

45. Bandeira M, Guedes G, Fonseca L, Pires A, Gelain D, Moreira J, et al. Characterization of Blood Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus Patients: Increase in Lipid Peroxidation and SOD Activity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2012.
46. Reznick AZ, Shehadeh N, Shafir Y, Nagler RM. Free radicals related effects and antioxidants in saliva and serum of adolescents with Type 1 diabetes mellitus. *Arch Oral Biol.* 2006;51(8):640-8.
47. Sharma P, Mishra S, Ajmera P, Mathur S. Oxidative stress in metabolic syndrome. *Indian J Clin Biochem.* 2005;20(1):145-9.
48. Sjogren P, Basu S, Rosell M, Silveira A, de Faire U, Vessby B, et al. Measures of oxidized low-density lipoprotein and oxidative stress are not related and not elevated in otherwise healthy men with the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(12):2580-6.
49. Bullon P, Morillo JM, Ramirez-Tortosa MC, Quiles JL, Newman HN, Battino M. Metabolic syndrome and periodontitis: is oxidative stress a common link? *J Dent Res.* 2009;88(6):503-18.
50. Atabek ME, Keskin M, Yazici C, Kendirci M, Hatipoglu N, Koklu E, et al. Protein oxidation in obesity and insulin resistance. *Eur J Pediatr.* 2006;165(11):753-6.
51. Beer C, Blacker D, Hankey GJ, Puddey IB. Association of clinical and aetiologic subtype of acute ischaemic stroke with inflammation, oxidative stress and vascular function: a cross-sectional observational study. *Med Sci Monit.* 2011;17(9):CR467-73.
52. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65(3):1009-16.
53. Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int.* 2000;58(6):2571-8.
54. Gamboa JL, Billings FT, Bojanowski MT, Gilliam LA, Yu C, Roshanravan B, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *Physiol Rep.* 2016;4(9).
55. Horton AL, Boggess KA, Moss KL, Beck J, Offenbacher S. Periodontal disease, oxidative stress, and risk for preeclampsia. *J Periodontol.* 2010;81(2):199-204.
56. Nakhaee A, Shahabizadeh F, Erfani M. Protein and lipid oxidative damage in healthy students during and after exam stress. *Physiol Behav.* 2013;118:118-21.
57. Hashemy SI, Gharaei S, Vasigh S, Kargozar S, Alirezaei B, Keyhani FJ, et al. Oxidative stress factors and C-reactive protein in patients with oral lichen planus before and 2 weeks after treatment. *J Oral Pathol Med.* 2016;45(1):35-40.
58. Kshirsagar AV, Craig RG, Beck JD, Moss K, Offenbacher S, Kotanko P, et al. Severe periodontitis is associated with low serum albumin among patients on maintenance hemodialysis therapy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(2):239-44.
59. Wehmeyer MM, Kshirsagar AV, Barros SP, Beck JD, Moss KL, Preisser JS, et al. A randomized controlled trial of intensive periodontal therapy on metabolic and inflammatory markers in patients With ESRD: results of an exploratory study. *Am J Kidney Dis.* 2013;61(3):450-8.
60. Kitabayashi C, Naruko T, Sugioka K, Yunoki K, Nakagawa M, Inaba M, et al. Positive association between plasma levels of oxidized low-density lipoprotein and myeloperoxidase after hemodialysis in patients with diabetic end-stage renal disease. *Hemodial Int.* 2013;17(4):557-67.
61. Sharma P, Dietrich T, Sidhu A, Vithlani V, Rahman M, Stringer S, et al. The periodontal health component of the Renal Impairment In Secondary Care (RIISC) cohort study: a description of the rationale, methodology and initial baseline results. *J Clin Periodontol.* 2014;41(7):653-61.
62. Linden GJ, Lyons A, Scannapieco FA. Periodontal systemic associations: review of the evidence. *J Periodontol.* 2013;84(4 Suppl):S8-S19.
63. Iwasaki M, Taylor GW, Nesse W, Vissink A, Yoshihara A, Miyazaki H. Periodontal disease and decreased kidney function in Japanese elderly. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(2):202-9.
64. Ruospo M, Palmer SC, Craig JC, Gentile G, Johnson DW, Ford PJ, et al. Prevalence and severity of oral disease in adults with chronic kidney disease: a systematic review of observational studies. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29(2):364-75.

65. Chambrone L, Foz AM, Guglielmetti MR, Pannuti CM, Artese HP, Feres M, et al. Periodontitis and chronic kidney disease: a systematic review of the association of diseases and the effect of periodontal treatment on estimated glomerular filtration rate. *J Clin Periodontol*. 2013;40(5):443-56.
66. Graziani F, Cei S, La Ferla F, Vano M, Gabriele M, Tonetti M. Effects of non-surgical periodontal therapy on the glomerular filtration rate of the kidney: an exploratory trial. *J Clin Periodontol*. 2010;37(7):638-43.
67. Artese HP, Sousa CO, Luiz RR, Sansone C, Torres MC. Effect of non-surgical periodontal treatment on chronic kidney disease patients. *Braz Oral Res*. 2010;24(4):449-54.
68. Borgnakke WS. Periodontitis may be associated with chronic kidney disease, but current evidence is insufficient. *J Evid Based Dent Pract*. 2013;13(3):88-90.
69. Vilela EM, Bastos JA, Fernandes N, Ferreira AP, Chaoubah A, Bastos MG. Treatment of chronic periodontitis decreases serum prohepcidin levels in patients with chronic kidney disease. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(4):657-62.
70. Brito F, Almeida S, Figueredo CM, Bregman R, Suassuna JH, Fischer RG. Extent and severity of chronic periodontitis in chronic kidney disease patients. *J Periodontal Res*. 2012;47(4):426-30.
71. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans*. 2007;35(Pt 5):1147-50.
72. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*. 1991;91(3C):14S-22S.
73. KBF B, NMB C, RCG A, SO dP, VPR M, J B. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. *Revista Nutrição*. 2010;23(4):639-43.
74. Burmester T. Physiology: a welcome shortage of breath. *Nature*. 2005;433(7025):471-2.
75. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*. 2007;43:160-232.
76. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*. 1990;280(1):1-8.
77. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1999;10(4):458-76.
78. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;286(3):R431-44.
79. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1103-11.
80. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*. 2010;89(11):1241-6.
81. Inchingolo F, Marrelli M, Annibaldi S, Cristalli MP, Dipalma G, Inchingolo AD, et al. Influence of endodontic treatment on systemic oxidative stress. *Int J Med Sci*. 2014;11(1):1-6.
82. Harma MI, Harma M, Erel O. d-ROMs test detects ceruloplasmin, not oxidative stress. *Chest*. 2006;130(4):1276; author reply -7.
83. Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J*. 2010;55(1):70-8.
84. Vasconcelos S, Goulart M, Moura J, Manfredini V, Benfato M, Kubota L. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova*. 2007;30(5):1323-38.
85. Nibali L, Donos N. Periodontitis and redox status: a review. *Curr Pharm Des*. 2013;19(15):2687-97.
86. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*. 1997;324 (Pt 1):1-18.
87. Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:244-53.
88. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996;239(1):70-6.

89. Villa-Correa YA, Isaza-Guzmán DM, Tobón-Arroyave SI. Prognostic Value of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and Human Neutrophil Elastase/ α 1-Proteinase Inhibitor Complex as Salivary Biomarkers of Oxidative Stress in Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2015;86(11):1260-7.
90. Zamora-Perez AL, Ortiz-García YM, Lazalde-Ramos BP, Guerrero-Velázquez C, Gómez-Meda BC, Ramírez-Aguilar M, et al. Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 2015;50(1):28-36.
91. Sezer U, Çiçek Y, Canakçi CF. Increased salivary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine may be a marker for disease activity for periodontitis. *Dis Markers*. 2012;32(3):165-72.
92. Su H, Gornitsky M, Velly AM, Yu H, Benarroch M, Schipper HM. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radic Biol Med*. 2009;46(7):914-21.
93. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005;15(4):316-28.
94. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med*. 2003;9(4):169-76.
95. Takane M, Sugano N, Ezawa T, Uchiyama T, Ito K. A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally-involved teeth of a hopeless prognosis. *J Oral Sci*. 2005;47(1):53-7.
96. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol*. 2004;31(7):515-21.
97. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):189-94.
98. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J*. 2000;50(3):140-61.
99. Tóthová L, Kamodyová N, Červenka T, Celec P. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front Cell Infect Microbiol*. 2015;5:73.
100. Tamaki N, Yoshino F, Fukui M, Hayashida H, Yoshida A, Kitamura M, et al. Relationship among salivary antioxidant activity, cytokines, and periodontitis: the Nagasaki Island study. *J Clin Periodontol*. 2015.
101. Chapple IL, Brock G, Eftimiadi C, Matthews JB. Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *Mol Pathol*. 2002;55(6):367-73.
102. Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83(12):1449-54.
103. Poulianiti KP, Kaltsatou A, Mitrou GI, Jamurtas AZ, Koutedakis Y, Maridaki M, et al. Systemic Redox Imbalance in Chronic Kidney Disease: A Systematic Review. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:8598253.
104. Putri AY, Thaha M. Role of oxidative stress on chronic kidney disease progression. *Acta Med Indones*. 2014;46(3):244-52.
105. Tucker PS, Scanlan AT, Dalbo VJ. Chronic kidney disease influences multiple systems: describing the relationship between oxidative stress, inflammation, kidney damage, and concomitant disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:806358.
106. Scholze A, Jankowski J, Pedraza-Chaverri J, Evenepoel P. Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:8375186.
107. Rangel-López A, Paniagua-Medina ME, Urbán-Reyes M, Cortes-Arredondo M, Alvarez-Aguilar C, López-Meza J, et al. Genetic damage in patients with chronic kidney disease, peritoneal dialysis and haemodialysis: a comparative study. *Mutagenesis*. 2013;28(2):219-25.
108. Kuchta A, Pacanis A, Kortas-Stempak B, Cwiklińska A, Ziętkiewicz M, Renke M, et al. Estimation of oxidative stress markers in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res*. 2011;34(1):12-9.
109. Tbahriti HF, Kaddous A, Bouchenak M, Mekki K. Effect of different stages of chronic kidney disease and renal replacement therapies on oxidant-antioxidant balance in uremic patients. *Biochem Res Int*. 2013;2013:358985.
110. Granata S, Zaza G, Simone S, Villani G, Latorre D, Pontrelli P, et al. Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC Genomics*. 2009;10:388.

111. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform.* 2009;42(2):377-81.
112. Navazesh M, Kumar SK, Dentistry UoSCSo. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc.* 2008;139 Suppl:35S-40S.
113. Christiansen TB, Lauritsen JM. EpiData - Comprehensive Data Management and Basic Statistical Analysis System. Odense Denmark, EpiData Association. 2010.
114. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229-35.
115. Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1994;233:346-57.
116. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1990;186:464-78.
117. Riener CK, Kada G, Gruber HJ. Quick measurement of protein sulfhydryls with Ellman's reagent and with 4,4'-dithiodipyridine. *Anal Bioanal Chem.* 2002;373(4-5):266-76.
118. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248-54.
119. ABEP. Critério de Classificação Econômica Brasil. Brasil. 2014.
120. Simão AF, Prêcoma DB, Andrade JP, Correa Filho H, Saraiva JF, Oliveira GM, et al. I cardiovascular prevention guideline of the Brazilian Society of Cardiology - executive summary. *Arq Bras Cardiol.* 2014;102(5):420-31.
121. ABESO. Diretrizes brasileiras de obesidade. 2016.
122. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet.* 2010;375(9709):132-40.
123. Committee IE. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(7):1327-34.
124. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-83.
125. Huang YQ, Gou R, Diao YS, Yin QH, Fan WX, Liang YP, et al. Charlson comorbidity index helps predict the risk of mortality for patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2014;15(1):58-66.
126. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression.* 2 ed: John Wiley & Sons; 2004. 392 p.
127. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J.* 1992;172(8):305-12.
128. Liu Z, Liu Y, Song Y, Zhang X, Wang S, Wang Z. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Dis Markers.* 2014;2014:931083.
129. Scully DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc.* 2002;61(1):137-43.
130. Scully DV, Langley-Evans SC. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond).* 2003;105(2):167-72.
131. Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J. Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int Dent J.* 1982;32(3):281-91.
132. Susin C, Kingman A, Albandar JM. Effect of partial recording protocols on estimates of prevalence of periodontal disease. *J Periodontol.* 2005;76(2):262-7.
133. Hendek MK, Erdemir EO, Kisa U, Ozcan G. Effect of initial periodontal therapy on oxidative stress markers in gingival crevicular fluid, saliva, and serum in smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2015;86(2):273-82.
134. Hegde MN, Hegde ND, Ashok A, Shetty S. Evaluation of total antioxidant capacity of saliva and serum in caries-free and caries-active adults: an in-vivo study. *Indian J Dent Res.* 2013;24(2):164-7.
135. Momen-Beitollahi J, Mansourian A, Momen-Heravi F, Amanlou M, Obradov S, Sahebamee M. Assessment of salivary and serum antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(4):e557-61.
136. Taylor JJ, Preshaw PM. Gingival crevicular fluid and saliva. *Periodontol 2000.* 2016;70(1):7-10.

137. Önder C, Kurgan Ş, Altıngöz SM, Bağış N, Uyanık M, Serdar MA, et al. Impact of non-surgical periodontal therapy on saliva and serum levels of markers of oxidative stress. *Clin Oral Investig*. 2016.
138. Deminice R, Sicchieri T, Payão PO, Jordão AA. Blood and salivary oxidative stress biomarkers following an acute session of resistance exercise in humans. *Int J Sports Med*. 2010;31(9):599-603.
139. Lawaf S, Azizi A, Tabarestani T. Comparison of Serum and Salivary Antioxidants in Patients with Temporomandibular Joint Disorders and Healthy Subjects. *J Dent (Tehran)*. 2015;12(4):263-70.
140. Wang Z, Wang Y, Liu H, Che Y, Xu Y, E L. Age-related variations of protein carbonyls in human saliva and plasma: is saliva protein carbonyls an alternative biomarker of aging? *Age (Dordr)*. 2015;37(3):9781.
141. Fenoll-Palomares C, Muñoz Montagud JV, Sanchiz V, Herreros B, Hernández V, Mínguez M, et al. Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Rev Esp Enferm Dig*. 2004;96(11):773-83.

APÊNDICES

Apêndice I. Questionário estruturado para entrevista dos participantes

Dados Pessoais

ID na pesquisa	_____
Nome	_____ (Nome completo)
Prontuário HCPA	_____
Endereço	_____ (Rua/avenida, bairro e cidade)
Telefone 1	_____ (DDD e o número)
Telefone 2	_____ (DDD e o número)
Telefone 3	_____ (DDD) e o número)
Sexo	<input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino
Data de Nascimento	_____ (MÊS - DIA - ano)
Idade	_____
Raça	<input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Preta <input type="checkbox"/> Parda <input type="checkbox"/> Amarela <input type="checkbox"/> Indígena (Autodeclarada)
Estado civil	<input type="checkbox"/> Solteiro(a) <input type="checkbox"/> Casado(a)/União estável <input type="checkbox"/> Divorciado(a) <input type="checkbox"/> Viúvo(a) <input type="checkbox"/> Outro

Caracterização Socioeconômica

Quantidade de banheiros	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
Empregados domésticos	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais (mensalista, mínimo 5 dias na semana)
Automóveis	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
Microcomputador	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais (NÃO inclui tablet, smartphone, palmtop. Inclui notebook, laptop, pc de mesa.)

Lava-louças	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
Geladeira	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
Freezer	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais (NÃO inclui o freezer da geladeira duplex)
Lava-roupa	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
DVD	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
Microondas	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais
Motocicleta	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais (particular, não inclui uso de motocicleta do trabalho)
Secadora de roupas	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais (Inclui máquina que lava e seca)
Escolaridade do Chefe de Família	<input type="checkbox"/> Analfabeto ou até fundamental incompleto <input type="checkbox"/> Fundamental I completo até Fundamental II incompleto <input type="checkbox"/> Fundamental II completo até Médio incompleto <input type="checkbox"/> Médio incompleto até Superior incompleto <input type="checkbox"/> Superior completo
Água Encanada	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No (ABEP)
Rua pavimentada	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No (ABEP)
Pontos - Critério Brasil	<hr/> (calcular depois)

Fatores Comportamentais

Você fuma atualmente?

- Yes
- No
- I quitte

(Se não fuma, passe para pergunta: Você ingere bebidas alcoólicas? / Se ex-fumante, passe para a pergunta: Há quantos anos você parou de fumar?)

Quantos cigarros por dia?

_____ (Não fumante ou ex-fumante = 0)

Por quantos anos?

_____ (Não fumante ou ex-fumante = 0)

Há quantos anos você parou de fumar?

_____ (Não fumante = 0. Se fumante atual, DEIXAR EM BRANCO e passar para pergunta: Você ingere bebidas alcoólicas?)

Quantos cigarros por dia você fumava?

_____ (Não fumante = 0. Se fumante atual, DEIXAR EM BRANCO e passar para pergunta: Você ingere bebidas alcoólicas?)

Por quantos anos você fumou?

_____ (Não fumante = 0. Se fumante atual, DEIXAR EM BRANCO e passar para pergunta: Você ingere bebidas alcoólicas?)

Você ingere bebidas alcoólicas?

- Nunca
- Raramente
- Às vezes
- Frequentemente

Qual tipo?

- Nenhum
- Cerveja
- Vinho
- Cachaça
- Outro

(Assinalar a bebida alcoólica que mais consome)

Quantas doses/copo você ingere por semana?

_____ (Se não ingere = 0)

Realiza atividade física regular?

- Yes
- No

Realiza acompanhamento nutricional?

- Yes
- No

Hábitos de Higiene Bucal e Acesso a Serviços Odontológicos

Com que frequência você escova seus dentes?

- Nunca
- Menos de 1 vez por dia
- 1 vez por dia
- 2 vezes por dia
- 3 ou mais vezes por dia

Qual tipo de escova que você usa?

- Não usa
- Macia
- Média
- Dura
- Não sabe

Com que frequência você limpa entre seus dentes?

- Nunca
- Menos de 1 vez por dia
- 1 vez por dia
- 2 vezes por dia
- 3 ou mais vezes por dia

O que você usa para limpar entre seus dentes?

- Nada
- Palito de dentes
- Fio dental
- Escova interdental
- Outro

Com que frequência você vai ao dentista?

- Nunca foi
- Não vou regularmente
- 1 vez a cada 2 anos
- 1 vez por ano
- 2 ou mais vezes ao ano

Onde foi a sua última consulta?

- Nunca foi ao dentista
- Serviço público
- Serviço particular
- Plano de saúde ou convênio
- Não sabe
- Outro

Você já fez tratamento gengival/periodontal?

- Yes
- No

Apêndice III. Parecer de aprovação do CEP/HCPA.

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE - HCPA /
UFRGS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO ASSOCIADO À DOENÇA PERIODONTAL EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA - UM ESTUDO PILOTO

Pesquisador: Fernando Saldanha Thomé

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 56121016.0.0000.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: FIPE/HCPA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.672.821

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos:

Termo de Compromisso para Uso de Dados (anexado em 13/05/2016).

Formulário de Delegação de Funções (anexado em 13/05/2016).

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido unificado com o Projeto CAAE 56328316.6.0000.5327 (anexado em 08/08/2016).

Recomendações:

Nada a recomendar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências emitidas para o projeto no parecer 1.644.386 foram adequadamente respondidas pelos pesquisadores, conforme carta de respostas, nova versão de projeto e de TCLE adicionadas em 08/08/2016. Não apresenta novas pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer liberado Ad-Referendum anterior à data prevista de relatoria, visando agilizar a tramitação do projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não