

## Analisis Histomorfometrik Pembentukan Lesi Aterosklerosis Koroner pada Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Periodontitis (*Histomorphometric Analysis of Coronary Atherosclerosis Lesions in Periodontitis Rat (Rattus norvegicus) Model*)

Rheza Satya Permana\*, Tantin Ermawati\*\*, I Dewa Ayu Susilawati\*\*  
\*Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ)  
\*\*Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121  
E-mail: tantin.ermawati@gmail.com

### Abstrak

**Latar belakang.** Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit paling mematikan di dunia dan penyebab utamanya adalah aterosklerosis. Paradigma baru menjelaskan bahwa inflamasi kronis seperti periodontitis dipertimbangkan sebagai faktor resiko terjadinya aterosklerosis. Periodontitis menyebabkan bakterimia yang berpengaruh terhadap inflamasi vaskuler. Keadaan ini dapat menyebabkan disfungsi sel endotel, peningkatan oksidasi dan deposisi lipid, sehingga meningkatkan resiko aterosklerosis. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh periodontitis terhadap pembentukan lesi aterosklerosis koroner. **Metoda.** Penelitian ini merupakan eksperimen in vivo pada tikus (*Rattus norvegicus*) menggunakan *the post test only control group design*. Sebanyak 12 sampel tikus dibagi atas kelompok kontrol (K) tanpa perlakuan dan kelompok periodontitis (P) yang dibuat dengan cara pemasangan *wire ligature* dan injeksi *Porphyromonas gingivalis* pada gigi molar pertama rahang bawah kiri 3 kali seminggu selama 4 minggu (28 hari). Terjadinya periodontitis dibuktikan dengan adanya resorpsi tulang alveolar. Pada hari ke-29 tikus didekaputasi, diambil jantungnya yang mengandung arteri koroner, dipotong secara melintang, kemudian dibuat preparat histologi dan dilakukan pengamatan histomorfometrik. Analisis Histomorfometrik terdiri atas pengamatan morfologi ada tidaknya tungkul arteri dan ukuran/ketebalan dinding arteri koroner. Analisis data morfologi tungkul (secara deskriptif) dan ketebalan dinding arteri secara statistik dengan *T test*. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa terbentuknya tungkul arteri lebih banyak pada kelompok periodontitis (83,33%) daripada kelompok kontrol (16,67%). Dinding arteri kelompok periodontitis juga lebih tebal ( $2,22 \pm 0,35 \mu\text{m}$ ) secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok kontrol ( $1,28 \pm 0,20 \mu\text{m}$ ). **Kesimpulan dan saran.** Periodontitis secara independen dapat mempengaruhi gambaran histomorfometrik pembentukan lesi aterosklerosis koroner. Perlu penelitian lebih lanjut terkait efek keparahan periodontitis terhadap pembentukan aterosklerosis koroner.

**Kata Kunci:** Aterosklerosis, Histomorfometrik, Model tikus periodontitis

### Abstract

**Background.** Cardiovascular disease is the most deadly disease in the world and is caused mainly by atherosclerosis. New paradigm explain that chronic inflammation such as periodontitis was considered to be one risk factors for atherosclerosis. Periodontitis cause bacteremia and affect vascular inflammation. This situation can cause endothelial cell dysfunction, increase of oxidation and deposition of lipids that increase the risk of atherosclerosis. **Purpose.** This study aimed to prove the effect of periodontitis on coronary atherosclerotic lesion formation. **Method.** This was an experimental study using the post-test only control group design. Samples were 12 rats (*Rattus norvegicus*) which were divided into control group (K) without treatment and periodontitis group (P) which was made by means of fitting wire ligature and injection of *Porphyromonas gingivalis* on the left mandibular first molar tooth 3 times a week for 4 weeks (28 days). On day 29<sup>th</sup>, rats were sacrificed and the heart which contained coronary arteries were removed and cut crosssectionally and prepared for histological examination. Histomorphometric analysis consists of identification of atherom formation and measurement of coronary arteries walls thickness. Morphological analysis was performed descriptively and analysis of the thickness of the arterial wall by statistic *T test*. **Results.** The results showed that the formation of atheroms were more frequent on periodontitis group (83.33%) compared to control group (16.67%). Arterial wall were significantly ( $p < 0.05$ ) thicker in periodontitis group ( $2.22 \pm 0.35 \text{ lm}$ ) than control group ( $1.28 \pm 0.20 \text{ lm}$ ). **Conclusions and suggestions.** Periodontitis can independently affect histomorphometric of coronary atherosclerotic lesion. Further studies were needed to analyze the effect of periodontitis severity in coronary atherosclerotic lesion formation.

**Keywords:** atherosclerosis, histomorphometric, periodontitis rat model

## Pendahuluan

Data statistik WHO menunjukkan bahwa penyakit kardiovaskuler menjadi penyakit yang paling mematikan di dunia. Di negara maju, 50% kematian disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler, sedangkan di negara-negara berkembang nilainya lebih kecil yaitu sekitar 16%) [1]. Penyakit ini dapat menyebabkan kegagalan jantung dalam memompa darah sehingga suplai darah terhenti. Pencetus utama penyakit ini adalah aterosklerosis koroner dan menyebabkan kematian mendadak [2].

Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan penebalan dinding arteri yang membentuk unit lesi, atau ateroma (dungkul arteri). Lesi aterosklerosis terdiri dari lemak dilapisi jaringan ikat fibrosa (*fibrous cap*). Timbulnya plak ateroma ini dapat menyebabkan penyempitan lumen arteri, dan apabila plak ateroma pecah (ruptur), akan menimbulkan trombosis dan gangguan aliran arteri [3]. Gangguan aliran darah ini dapat menyebabkan terjadinya iskemia dan kematian jaringan di daerah aliran arteri. Apabila hal ini terjadi pada arteri koroner, dapat menimbulkan gangguan jantung ditandai nyeri dada (*Angina pectoris*) dan kematian otot jantung (*Infark miokard*) [4]. Keadaan ini sering berakibat fatal dan dapat menyebabkan kematian.

Beberapa tahun terakhir terjadi pergeseran konsep patogenesis aterosklerosis bahwa lemak yang abnormal bukan lagi menjadi etiologi utama penyakit aterosklerosis, tetapi infeksi bakteri diyakini sebagai stimulus penting yang menyebabkan aterosklerosis. Proses inflamasi dapat memicu agregasi dari sel-sel inflamasi. Bakteri dan produknya dapat merusak pembuluh darah dan mempengaruhi metabolisme lemak, koagulasi darah, monosit, makrofag atau sel endotel. Perubahan ini dapat menyebabkan peningkatan resiko terjadinya aterosklerosis. Salah satu bakteri yang diduga berpengaruh pada pembentukan aterosklerosis adalah bakteri periodontitis [5].

Periodontitis merupakan penyakit yang umum diderita manusia. Periodontitis adalah penyakit peradangan pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok mikroorganisme terutama bakteri batang gram negatif. *Bacteroides forsythus* dan *Porphyromonas gingivalis*. Kerusakan jaringan periodontal dapat menyebabkan bakteri masuk ke dalam sirkulasi darah melalui gusi yang berdarah [6]. Bakteri yang masuk ke dalam sirkulasi darah ini diduga dapat mengakibatkan aterosklerosis bahkan *infark miokardial akut* (IMA) [7].

*P. gingivalis* akhir-akhir ini diteliti epidemiologis, serologis dan klinis yang menemukan adanya korelasi positif hubungan dengan kejadian sindrom koroner akut (*coronary acute syndrome*, ACS). Hal ini didasari oleh laporan dari studi epidemiologis, serologis dan klinis yang menemukan adanya korelasi positif antara peningkatan resiko ACS dengan infeksi *P. gingivalis* [8],[9]. Czernium dkk, memonitor 13-16 tahun setelah pemeriksaan dental baseline dari 9060 orang yang diteliti subjek periodontitis memiliki resiko 25% lebih besar dibanding subjek tanpa periodontitis pada kasus aterosklerosis [10]. Harazy dkk., melaporkan teridentifikasi *P. gingivalis* (viable atau konstituennya) pada plak aterosklerotik manusia [11]. Li dkk, melakukan

eksperimental bakterimia pada tikus, inokulasi intravena *P. gingivalis* meningkatkan perkembangan lesi aterosklerosis [12]. Qi dkk, melaporkan, *P. gingivalis* dapat menginduksi pembentukan *foam cell* makrofag [13].

Fenomena adanya hubungan antara periodontitis dengan aterosklerosis ini menimbulkan keinginan untuk meneliti, pengaruh periodontitis terhadap pembentukan lesi aterosklerosis. Sejauh ini hubungan kausa efek secara langsung periodontitis terhadap pembentukan lesi aterosklerosis belum banyak diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh periodontitis terhadap pembentukan lesi aterosklerosis koroner.

## Metode Penelitian

**Bahan.** Bahan yang digunakan untuk pembuatan tikus periodontitis adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*), *wire ligature* diameter 0,5mm, *Porphyromonas gingivalis* tipe ATCC 33277, ketamin (KTM 1000). Pakan yang digunakan adalah pelet jenis B76.

Bahan yang digunakan untuk prosesing jaringan terdiri atas formalin 10%, *Ammonium Hydroxide* 5%, *Ammonium Oxalate* 5%, alkohol konsentrasi bertingkat mulai 70%, 80%, 95%, dan 100%, *Embedding Paraffin* (Paraplast Plus), *xylol*, *Haematoksilin Eosin*, *Oil red*, dan *entellan*.

**Metode.** Penelitian eksperimental in vivo pada tikus (*Rattus norvegicus*) ini menggunakan rancangan *the post test only control group design*. Objek penelitian adalah 12 ekor tikus wistar jantan, dengan kriteria tikus umur 3-4 bulan dan dalam keadaan sehat. Tikus dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok periodontitis (P). Kelompok K tidak diberi perlakuan, sedangkan kelompok P adalah model tikus periodontitis. Semua tikus diberi makan setiap harinya dengan pakan standar.

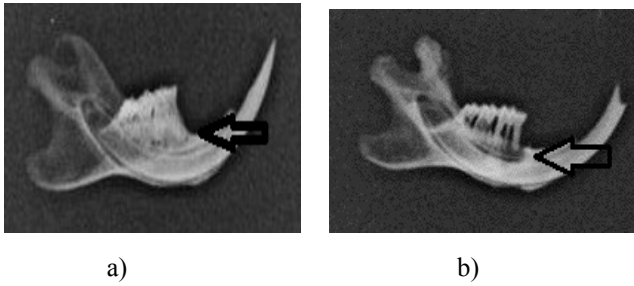
Penelitian dimulai dari tahap adaptasi tikus dan persiapan bahan. Selanjutnya pembuatan tikus periodontitis, yaitu tikus dipasangkan *wire ligature* dan injeksi *P.gingivalis* pada gigi molar pertama rahang bawah kiri tiga kali dalam seminggu selama empat minggu. Konsentrasi *P.gingivalis* yang digunakan adalah 5µg/0,05 ml PBS. Sebelumnya dilakukan pembiusan secara *intramuscular* dengan ketamin (KTM 1000) dengan dosis 80 mg/kg atau senilai 0,02ml. Periodontitis dibuktikan dengan ditemukannya resorpsi tulang alveolar (gambar 1 dan gambar 2).



a) **Gambar 1.** Hasil foto mandibula kiri setelah jaringan lunak dihilangkan a) pada kelompok kontrol menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal b) pada tikus periodontitis menunjukkan adanya resorpsi tulang alveolar

**Gambar 3. Persentase terbentuknya dungkul arteri**

Secara histologis, terdapat perbedaan gambaran morfologi arteri kelompok kontrol dan kelompok periodontitis. Pada kelompok kontrol terlihat tidak/ sedikit terdapat dungkul, permukaan dinding arteri rata, dan tidak ada penebalan dinding (gambar 4). Sedangkan kelompok periodontitis terlihat adanya dungkul, penebalan dinding arteri, dan permukaan dinding tidak rata (gambar 5).



**Gambar 2. Hasil pemeriksaan radiologis pada mandibula kiri**  
 a) kelompok kontrol menunjukkan tulang alveolar normal  
 b) tikus periodontitis menunjukkan adanya resorpsi tulang alveolar

Pada hari ke-29, seluruh sampel dilakukan dekaputasi dan dilanjutkan dengan pengambilan jantung yang mengandung arteri koroner. Jantung dipotong melintang dibagian tengah, kemudian difiksasi dengan formalin 10%. Jaringan dilakukan *processing* jaringan untuk membuat preparat histologi dengan pengecatan hematoksilin. Tahap pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Parameter yang diamati adalah ada tidaknya dungkul arteri (lesi aterosklerosis) dan ketebalan arteri koroner yang diukur dengan mikrometer grade. Data morfologi dungkul dianalisis secara deskriptif sedangkan ketebalan dinding arteri analisis secara statistik parametrik.

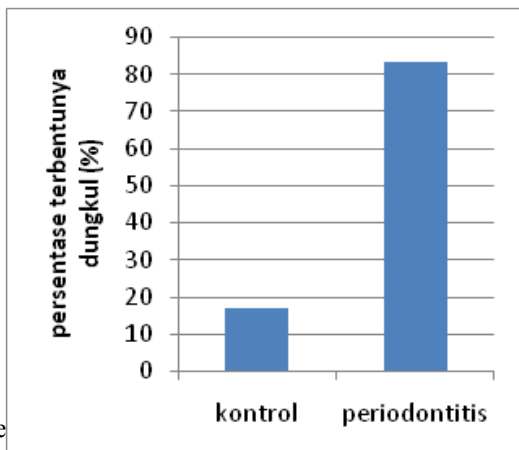
**Hasil Penelitian**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok periodontitis lebih banyak terbentuk dungkul arteri (83,33%) daripada kelompok kontrol (16,67%). Data morfologi ada tidaknya dungkul arteri koroner tersaji pada tabel 1 dan gambar 3.

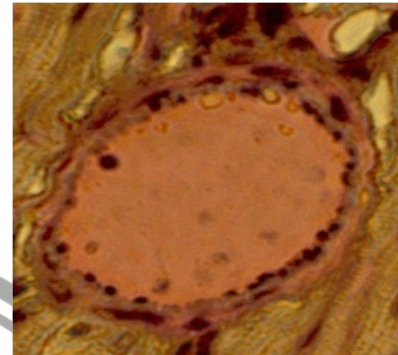
**Tabel 1. Dungkul Arteri Koroner yang Terbentuk**

Kelompok	N	Ditemui dungkul	Persentase (%)
Kontrol	18	3	16,67
Periodontitis	18	15	83,33

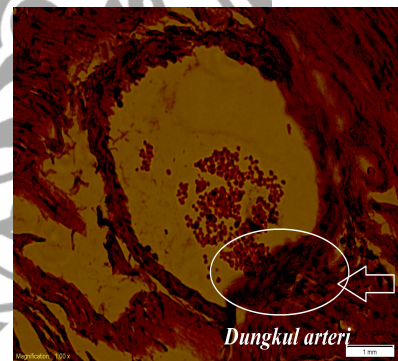
**keterangan :** N adalah jumlah spesimen yang diamati (masing-masing 3 spesimen dari 6 sampel)



Artike

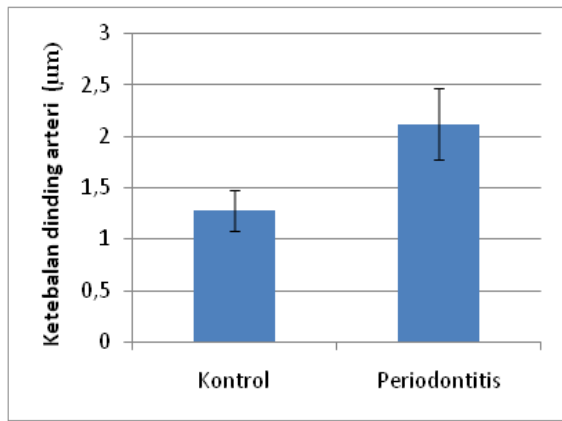


**Gambar 4. Morfologi arteri koroner kelompok kontrol, tidak periodontitis.** Dinding arteri berbentuk bulat, permukaan rata, dan tidak ada dungkul/penebalan dinding



**Gambar 5. Gambaran morfologi arteri koroner yang mengalami aterosklerosis pada tikus periodontitis.** Bentuk arteri tidak teratur, ketebalan dinding tidak rata dan ada tonjolan/penebalan dinding, daerah yang ditandai adalah daerah terbentuknya dungkul yang mengalami penebalan

Hasil pengukuran ketebalan dinding arteri koroner juga menunjukkan bahwa kelompok periodontitis lebih tebal. Nilai rata-rata kelompok kontrol adalah  $1,28 \pm 0,20 \mu\text{m}$ , sedangkan kelompok periodontitis adalah  $2,22 \pm 0,35 \mu\text{m}$ . Data ketebalan dinding arteri (gambar 6).



**Gambar 6.** Nilai rata-rata ketebalan dinding arteri koroner

Hasil uji normalitas dan homogenitas didapatkan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ). Maka hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen. Hasil pengukuran ketebalan dinding arteri koroner dilakukan uji t-test menunjukkan nilai signifikansi adalah 0,00 ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok periodontitis (tabel 2).

**Tabel 2 Hasil Uji T test pada nilai rata-rata ketebalan arteri koroner**

Kelompok	N	Mean±Sd (µm)
Kontrol	18	1,28±0,20
Periodontitis	18	2,22±0,35
Sig.	0,01 ( $p < 0,05$ )	

**keterangan :** N adalah jumlah spesimen yang diamati (masing-masing 3 spesimen dari 6 sampel)  
\* beda signifikan ( $p < 0,05$ )

**Pembahasan**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tikus periodontitis lebih banyak terbentuk lesi arterosklerosis dibandingkan kelompok kontrol. Selain itu, ketebalan dinding arteri koroner kelompok periodontitis juga lebih tebal. Hal ini membuktikan bahwa periodontitis mempengaruhi pembentukan arterosklerosis arteri koroner.

Pada kelompok kontrol masih ditemukan sedikit tungkai arteri koroner (lesi aterosklerosis). Hal ini karena etiologi aterosklerosis yang kompleks seperti hiperlipidemia, kolesteros tinggi, kebiasaan, pola hidup, inflamasi, dan penambahan usia. Pada penelitian ini, faktor yang diduga menimbulkan aterosklerosis pada kelompok kontrol adalah faktor penambahan usia.

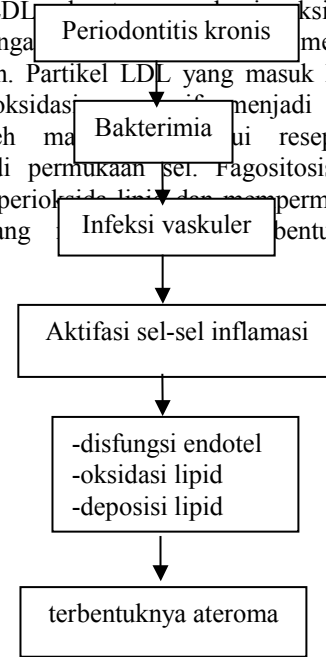
Babior telah meneliti tentang faktor penambahan usia pembuluh darah terhadap pembentukan lesi aterosklerosis, melaporkan bahwa lesi aterosklerosis mulai terjadi pada usia muda. Pertambahan usia berdampak pada peningkatan reaktifasi dari *Endothelium dependent nitrovaskuler* yang menyebabkan berkurangnya daya relaksasi otot. Selain itu, mulai munculnya radikal bebas pada sel-sel endotel yang

menua memicu peningkatan oksidasi lipid. Apabila konsentrasi lemak dalam darah tinggi, akan terjadi deposisi lipid pada pembuluh darah dan dapat meningkatkan resiko pembentukan lesi aterosklerosis. Penuaan sel-sel endotel juga menyebabkan terganggunya fungsi sel endotel sebagai vasodilator, anti inflamasi dan sejumlah peran lain. Apabila berlangsung lama, dapat berakibat pada disfungsi endotel yang menjadi tahapan awal dari lesi aterosklerosis (lesi initial) [14].

Pada kelompok periodontitis terlihat secara signifikan tanda-tanda aterosklerosis berupa tungkai arteri koroner dan penebalan ukuran dinding arteri koroner. Infeksi periodontitis menyebabkan sel-sel bakteri atau produknya seperti lipopolisakarida (LPS), fragmen peptidoglikan, enzim-enzim hidrolitik, dapat masuk ke sirkulasi darah (bakterimia). Terdapatnya bakteri dan produk-produknya di dalam sirkulasi darah, meningkatkan respon imun sistemik, berupa peningkatan antibodi IgG dan peningkatan beberapa marker inflamasi sistemik dalam serum darah penderita periodontitis seperti CRP, IL-6, dan sejumlah netrofil [15], [16],[17]. Ogawa dkk. melaporkan *P. gingivalis* dapat memproduksi sitokin pro inflamatori dalam jumlah besar, seperti IL-1, IL-6, IL-8 dan *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$  pada darah [18].

Produk-produk bakteri yang masuk ke dalam sirkulasi darah dapat menginvasi sel-sel endotel sehingga menyebabkan disfungsi endotel (lesi initial). Disfungsi endotel disebabkan oleh adanya penempelan sel-sel monosit pada endotel. Penempelan pada endotel ini diperantarai oleh beberapa molekul adhesi pada permukaan sel endotel yaitu *intercellular adhesion molekul-1* (ICAM-1). Molekul adhesi ini diatur oleh sejumlah faktor yaitu produk bakteri lipopolisakarida, prostaglandin dan sitokin. Apabila inflamasi terus menerus, jejas yang ada akan membuat adanya migrasi pada sejumlah sel-sel inflamasi seperti netrofil dan monosit. Kemudian monosit berpenetrasi ke lapisan lebih dalam di bawah lapisan intima, terjadi proliferasi monosit menjadi sel busa (*foam cell*) dan terbentuknya plak atheroma. Proliferasi sel-sel monosit bersama plak kolesterol menjadi makrofag (sel busa), dan menyebabkan aterosklerosis [19],[20],[21].

Inflamasi juga menyebabkan peningkatan pada kolesterol LDL yang tinggi. Jain dkk melaporkan terjadinya peningkatan deposisi lipid pada pembuluh-pembuluh utama, berkaitan dengan periodontitis [22]. Demmer dan Desvarieux dalam penelitiannya menyebutkan potensi inflamasi dalam meningkatkan kadar kolesterol LDL [23]. Kolesterol LDL berikatan dengan Periodontitis kronis, mengalami oksidasi, agregasi, berikatan dengan Bakteriemia, menjadi LDL-oks dan difagosit oleh makrofag, melalui reseptor scavenger (pemangsa) di permukaan sel. Fagositosis menyebabkan terbentuknya periodontitis kronis, yang mempermudah akumulasi kolesterol yang membentuk sel busa (gambar 7).



**Gambar 7. Pengaruh periodontitis pada aterosklerosis.**

Bakteri dan produknya merusak endotel, oksidasi lipid dan deposisi lipid meningkatkan terjadinya lesi aterosklerosis

Respon inflamasi juga berefek terhadap migrasi lipoprotein dalam arteri, tetapi kadar lipoprotein plasma yang terbentuk di berbagai tempat di arteri berbeda. Regio yang terjadi akumulasi liprotein yang banyak adalah di area yang mengalami paparan mekanik yang besar, sehingga meningkatkan *residence time* (waktu tinggal) partikel aterogenik yang bersirkulasi dipermukaan lumen arteri [2].

Penyakit aterosklerosis dan periodontitis merupakan suatu keadaan yang umum dijumpai pada manusia. Dalam proses aterogenesis, inflamasi secara terus menerus berperan terhadap disfungsi sel endotel, pembentukan plak, sampai pecahnya plak pada pembuluh darah. Munculnya infeksi seperti periodontitis menguatkan inflamasi dalam aterosklerosis. Studi observasi terkini terus memperlihatkan suatu peningkatan resiko ringan tetapi signifikan pada penyakit aterosklerosis di antara orang-orang yang terkena penyakit periodontal [24].

Dorn dkk. merangkum beberapa penelitian epidemiologi, dan mendapatkan bahwa periodontitis merupakan faktor resiko penting bagi aterosklerosis. Beberapa penelitian lain, Mattila dkk. menemukan bahwa pasien penyakit kardiovaskuler memiliki kesehatan dental yang lebih buruk dibanding populasi kontrol. Beck dkk. mengevaluasi penyakit periodontal dan variabel-variabelnya sebagai faktor resiko aterosklerosis. Mereka mendapatkan, setiap 20% *alveolar bone loss* (parameter paling akurat untuk mengukur periodontitis), insidensi aterosklerosis meningkat 40%. Lebih lanjut dilaporkan, pasien-pasien dengan *alveolar bone loss* 40% memiliki resiko 2,7 kali lebih tinggi terkena aterosklerosis [25].

Penelitian ini telah membuktikan bahwa periodontitis dapat meningkatkan pembentukan lesi aterosklerosis koroner. Namun, pada penelitian ini tingkat keparahan periodontitis, derajat bakterimia, dan keberadaan bakteri di arteri koroner tidak diukur. Penelitian ini masih sebatas meneliti kausa efek periodontitis terhadap aterosklerosis. Penelitian ini masih belum dapat menerangkan patomekanismenya. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai hal ini.

**Kesimpulan dan Saran**

**Kesimpulan.** Periodontitis secara independen dapat meningkatkan pembentukan lesi aterosklerosis koroner.

**Saran.** Perlu penelitian lebih lanjut mengenai tingkat keparahan periodontitis, derajat bakterimia, dan keberadaan bakteri pada arteri koroner, serta patomekanisme periodontitis terhadap pembentukan lesi aterosklerosis.

**Ucapan Terima Kasih**

Penulis menyampaikan terima kasih kepada drg. Agustin Wulan Suci Darmayanti, MD.Sc., selaku Dosen

Penguji Utama; drg. Yuliana MDA, M.Kes., selaku Dosen Penguji Pendamping atas masukan dan saran yang diberikan.

**Daftar Pustaka**

- [1] Beck JD, Slade G, Offenbacher S. 2004. Oral Disease, Cardiovascular Disease and Systemic Inflammation. *Periodontology*; Vol.23; 110-19
- [2] Ross R. 2004. *Atherosclerosis and Inflammatory Disease*. New England : Med.
- [3] Suryohudoyo P. 2002. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- [4] Price, S.A., Wilson, L.M. 2003. *Patofisiologi : Konsep klinis Proses-Proses Penyakit, Edisi 6*. Jakarta : EGC.
- [5] Agus S., Yanti R. 2010. *Penyakit Periodontal dan Penyakit Jantung Koroner (Aterosklerosis)*. Bandung : UNPAD.
- [6] Caranza FA Jr. 2006. *Glickman's Clinical Periodontology, Sixth Edition*. Philadelphia London : W.B Saunders Company.
- [7] Manson JD., Eley BM. 2004. *Periodontics, Fifth Edition*. Edinburgh London : An imprint of Elsevier.
- [8] Pussinen P.J., Alfthan G., Rissanen H., Reunanen A., Asikainen S., Knekt P. 2004. Antibodies to Periodontal Pathogens and Stroke Risk. *Stroke*. 35;2020
- [9] Rech RL, Nurkin N, da Cruz I, Sostizzo F, Baiao C, Perrone JA, Wainstein R, Pretto D, Manenti ER, Bodanese LC. 2007. Association Between Periodontal Disease and Acute Coronary Syndrome. *Arq Bras Cardiol*. Feb;88(2):185-90.
- [10] Czerniuk MR., Gorska R., Filipiak KJ., Opolski G. 2004. Inflammatory Response to Acute Coronary Syndrome in Patients with Coexistent Periodontal Disease. *J. Periodontol*. 75(7). 1020-1026.
- [11] Harazy VI., Zambon JJ., Trevisan M., Zeid M., Genco RJ. 2000. Identification of Periodontal Pathogens in Atheromatous Plaques. *J. Periodontol*. 71:1554-60
- [12] Li X, Koltveit KM, Tronstad L, Olsen I. 2010. Systemic Disease Caused by Oral Infection. *Clinical Microbiology Review*: Vol.13 No. 4; 547-558.
- [13] Qi M., Miyakawa H., Kuramitsu HK. 2003. *Porphyromonas gingivalis* Induces Murine Macrophage Foam Cell Formation. *Microb Pathog*. Dec; 35(6); 259-67.
- [14] Babior, B.M. 2005. NADPH Oxidase: An Update. *Blood*. 93 (5) pp. 1464-1476.
- [15] Anusakthien O., Teanpaisan R. 2000. Humoral Antibody Response to *Porphyromonas gingivalis* in Periodontal Patients. *J. Dent Assoc Thai* : 28-33.
- [16] D' Auito F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett, Ready D, Tonetti MS. 2004. Periodontitis and Systemic Inflammation : Control of Local Infection is Associated with a Reduction in serum Inflammatory Marker. *J. Dent Rest* 83 (2). p. 156-160.
- [17] Loos BG., Craandijk J., Hoek FJ., Wertheim-van Dillen. 2000. Elevation of Systemic Marker Related to Cardiovascular Disease in the Peripheral Blood of Periodontitis Patients. *J. Periodontol*. 71 : 1528-1534.

- [18] Ogawa T, Ucida, Hamada S. 2004. *Porphyromonas gingivalis* Fimbriae and Their Synthetic Peptides Induce Proinflammatory Cytokines in Human Peripheral Blood Monocyte Cultures. *FEMS Microbiol Lett.* Feb. 15, 116 (2) : 237-42.
- [19] Mealey BL, Perry RK. 2006. *Periodontal Medicine : Impact of Periodontal Infection on Systemic Health.* Philadelphia: W. B. Saunder Company.
- [20] Deshpande R.G., Khan M.B., Genco C.A. 1998. Invasion of Aortic and Heart Endothelial Cell by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, vol. 66, No.11, P.5337-5343.
- [21] Leinonen, M. dan Saikku, P. 2000. *Infections and Atherosclerosis. Scand J Cardiovasc Disease* 34: 12-20.
- [22] Jain A., Batista E.L., Serhan C., Stahl G.L., Van D. 2003. The Role for Periodontitis in The Progression of Lipid Deposition in Animal Model. *Infection and Immunity.* Okt. 2003, p.6012-6018.
- [23] Demmer, R.T., dan Desvarieux, M. 2006. Periodontitis Infection and Cardiovascular Disease. The Heart of The Matter. *Am Dent Assoc*, 137 (suppl 2): 14S-20S.
- [24] Paquette D.W., Nadine B., Timoyhy CN. 2007. Cardiovascular Disease, Inflammation and Periodontal Infection. *Periodontology* : 113-26.
- [25] Dorn BR., Dun W.A., Fox A.P. 2001. *Porphyromonas gingivalis* Traffics to Autophagosomes in Human Coronary Artery Endothelial cell. *Infection and Immunity.* Vol.69, No.9p 5698-5708.

