



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Fernanda de Brito Silva

**Perfil da resposta Th1/Th2 no fluido gengival de pacientes portadores de
doença inflamatória intestinal com periodontite crônica**

Rio de Janeiro

2008

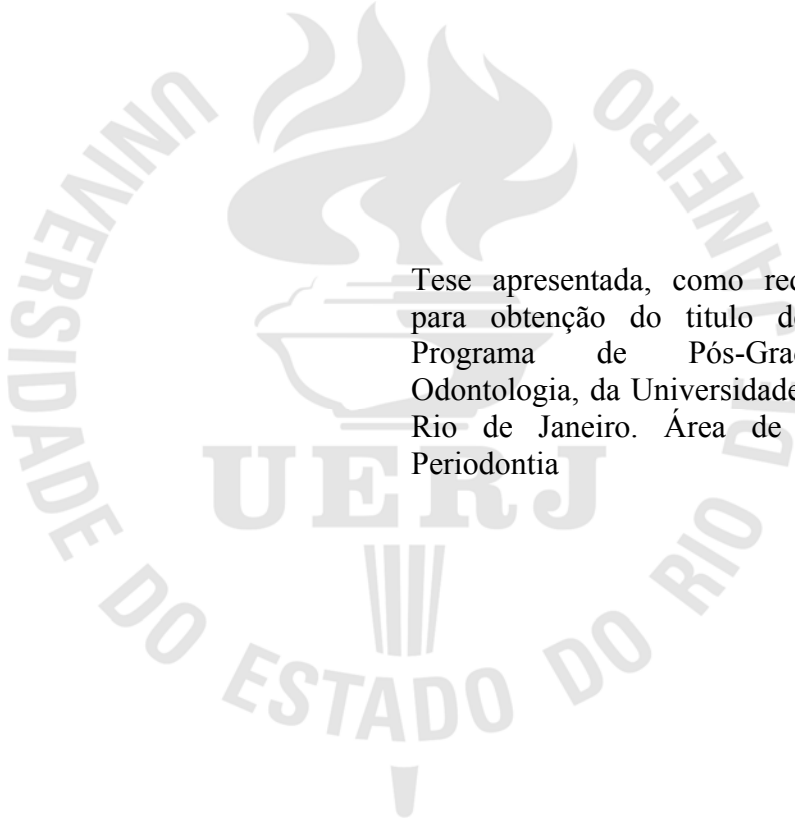
Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Fernanda de Brito Silva

Perfil da resposta Th1/Th2 no fluido gengival de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal com periodontite crônica



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Marcelo da Silva Figueredo

Co-orientador: Prof. Dr. Anders Gustafsson

Rio de Janeiro

2008

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

S586	<p>Silva, Fernanda de Brito. Perfil da resposta Th1/Th2 no fluido gengival de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal com periodontite crônica / Fernanda de Brito Silva. – 2008. 75 f.</p> <p>Orientador: Carlos Marcelo da Silva Figueredo. Co-orientador: Anders Gustafsson. Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.</p> <p>1. Periodontite. 2. Intestinos – Doenças inflamatórias 3. Crohn, Doenças de. 4. Colite ulcerativa. 5. Citocinese. 6. Células T. I. Figueredo, Carlos Marcelo da Silva. II. Gustafsson, Anders. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 616.314</p>
------	--

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

Assinatura

Data

Fernanda de Brito Silva

**Perfil da resposta Th1/Th2 no fluido gengival de pacientes portadores de doença
inflamatória intestinal com periodontite crônica**

Tese apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor, ao
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia, da Universidade do Estado do
Rio de Janeiro. Área de concentração:
Periodontia

Rio de Janeiro, 1 de agosto de 2008.

Orientadores:

Prof. Dr. Carlos Marcelo da Silva Figueredo (Orientador)
Faculdade de Odontologia da UERJ

Prof. Dr. Anders Gustafsson (Co-orientador)
Parodontologi Department, Karolinska Institutet (SE)

Banca Examinadora:

Profª. Dra. Katia Regina Hostilio Cervantes Dias
Faculdade de Odontologia da UERJ

Prof. Dr. Raphael Hirata Júnior
Faculdade de Ciências Médicas da UERJ

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer
Faculdade de Odontologia da UERJ

Profª. Dra. Cyrla Zaltman
Faculdade de Medicina da UFRJ

Prof. Dr. Márcio Eduardo Vieira Falabella
Escola de Ciências da Saúde da UNIGRANRIO

Rio de Janeiro

2008

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese à professora Katia Regina H. Cervantes Dias que, como responsável pelo grupo PET/ODONTO/UERJ, teve uma participação especial na minha formação não apenas como tutora, mas como professora, conselheira, amiga e mãe.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as graças recebidas durante a minha vida, especialmente por esta tão sonhada etapa.

Aos meus amores, minha mãe Maria das Graças, ao meu pai Fernando, ao meu tio Reinaldo (tio Aldo) e ao meu irmão Bruno por estarem sempre ao meu lado apoiando as minhas decisões, incentivando os meus estudos e por compartilharem intensamente todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador Carlos Marcelo da Silva Figueredo, incentivador incansável. Muito obrigada pelo apoio, dedicação e pelo carinho. Apesar dos freqüentes “puxões de orelha”, sou eternamente grata por tudo o que você fez por mim.

Ao meu co-orientador Anders Gustafsson pela convivência maravilhosa, pelos ensinamentos diários e por ter me recebido no Karolinska Intitutet.

Ao professor Ricardo Fischer pela oportunidade do curso, por ter acreditado e investido em mim, pelo carinho e pelos conselhos apaziguadores.

Aos médicos Antônio José Carneiro, Ana Teresa Pulgas e Cyrla Zaltman por acreditarem no meu projeto. Sem a imensurável colaboração de vocês, não seria possível a realização desse trabalho.

A Fabiana Barros, Juliana Menegat e Roberta Pedreira. O trabalho em equipe foi um grande aprendizado e essencial para que nossas metas fossem alcançadas.

A todos os meus professores pelos ensinamentos e incentivo.

Aos técnicos em enfermagem que nos ajudaram na coleta do sangue e aos funcionários da Faculdade de Odontologia da UERJ, em especial à Maria Jorginete da Silva.

Aos funcionários do Karolinska Institutet pela recepção calorosa, dedicação e auxílio na realização desse trabalho.

Aos que estiveram ao meu lado em Estocolmo, alegrando os meus dias: Abier Sofrata, Fernanda Correa, Francisco Rios, Nilminie, Farzeen, Ai, Alisa, Diana, Andreza, Carlos Conte, Garbo, Moe, Farhard, Lenis, Els, Miyoung, Marco, Julio, Tove, Raquel, e Souyong Kim.

Aos meus amigos pelo companheirismo e pela torcida. Vocês sabem o quanto são importantes para mim.

A Paula Siqueira e Flavia Martinez pela amizade e por me ouvirem pacientemente.

A Flavia Pessanha por todo o carinho e por me ajudar na revisão do trabalho.

A professora Tereza de Abreu por sua amizade, pelas dicas maravilhosas sobre a vida na Suécia, por ser um modelo de perfeccionismo e por essa humildade impressionante. Muito obrigada pelo empenho na revisão do trabalho.

A família Ramos Ligeiro por ser a minha segunda família.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela concessão da bolsa de estudos de doutorado sanduíche.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para esse trabalho.

A todos os pacientes pela colaboração e por acreditarem na minha pesquisa.

RESUMO

SILVA, Fernanda de. Perfil da resposta Th1/Th2 no fluido gengival de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal com periodontite crônica. 2008. 75 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

O objetivo dessa tese foi avaliar a expressão de citocinas Th1 (IL-12 e $\text{INF}\gamma$), citocinas Th2 (IL-4, IL-6 e IL-10) e das citocinas pró-inflamatórias IL-18, IL-1 β e $\text{TNF}\alpha$ no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica portadores da doença de Crohn (DC), de retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e em indivíduos saudáveis (o grupo controle, GC). Como objetivo secundário, avaliamos a função dos neutrófilos no fluido gengival desses pacientes através da mensuração das metaloproteinases da matriz -8, -9 (MMP-8 e MMP-9) e da atividade da elastase. Quinze pacientes com DC (idade média 38.2 ± 11.4 anos), 15 pacientes com RCUI (idade média 45.0 ± 10.5 anos) e 15 pacientes saudáveis (idade média 42.1 ± 7.8 anos) participaram desse estudo. Todos os dentes presentes, com exceção dos terceiros molares, foram examinados. Profundidade de bolsa (PB), nível de inserção clínica (NI), presença de placa e de sangramento a sondagem foram avaliados em seis sítios por dente. Em cada paciente, o fluido de 4 sítios com periodontite ($\text{PB} \geq 5$ mm e $\text{NI} \geq 3$ mm) e de 4 sítios com gengivite ($\text{PB} \leq 3$ mm e $\text{NI} \leq 1$ mm) foram coletados através de pontas de papel absorvente pré-fabricadas. O sistema LUMINEX[®] foi utilizado na mensuração das IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, $\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$, MMP-8 e MMP-9. A IL-18 foi analisada através do ensaio ELISA e a atividade de elastase através de uma reação enzimática. O soro desses pacientes também foi analisado e o coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado na análise da correlação entre as citocinas no soro e no fluido gengival. Nos sítios com gengivite, a quantidade total de IL-4 foi significativamente menor no grupo RCUI do que no grupo GC ($p=0.016$). Nos sítios com periodontite, a quantidade total de IL-4 foi significativamente menor no grupo DC do que no grupo GC ($p=0.029$). A quantidade total da IL-6 ($p=0.028$) assim como sua concentração ($p=0.044$) foram significativamente maiores no grupo RCUI do que no grupo GC. No soro, os níveis da IL-18 foram significativamente mais altos nos grupos DC ($p=0.011$) e RCUI ($p=0.019$) do que no grupo GC. No grupo RCUI, a IL-18 do soro se correlacionou positivamente com a IL-1 β do fluido gengival ($r=0.667$, $p=0.01$). Concluindo, nos pacientes com doença inflamatória intestinal, os níveis da IL-4 estavam mais baixos no fluido gengival e os níveis da IL-18 estavam aumentados no soro quando comparados aos controles. A função dos neutrófilos foi similar entre os pacientes com doença inflamatória intestinal e os controles. Com exceção da correlação positiva entre a IL-18 sérica e a IL-1 β no fluido gengival dos pacientes com retocolite ulcerativa idiopática, não houve correlação entre as diversas citocinas mensuradas no soro e as citocinas mensuradas no fluido gengival nos controles nem nos pacientes com doença inflamatória intestinal. Não houve a caracterização de um padrão de resposta Th1 ou Th2 no fluido gengival dos pacientes com doença inflamatória intestinal.

Palavras-chave: Periodontite. Doença inflamatória intestinal. Citocinas. Perfil linfocitário.

ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the expression of Th1 cytokines (IL-12 and INF- γ), Th2 cytokines (IL-4, IL-6 and IL-10) and the pro-inflammatory cytokines IL-18, IL-1 β and TNF- α in the gingival crevicular fluid (GCF) from Crohn's disease (CD) patients, ulcerative colitis (UC) patients and healthy individuals (control group, CG) who had chronic periodontitis. Besides, we measured elastase activity, matrix metalloproteinase -8 and -9 (MMP-8 and -9) to address the neutrophil function in the GCF. Fifteen CD patients (mean age 38.2 ± 11.4 years), 15 UC patients (mean age 45.0 ± 10.5 years) and 15 systemically healthy controls (mean age 42.1 ± 7.8 years) were enrolled in this study. All the present teeth, except for the third molars were examined. Probing pocket depth (PPD), clinical attachment loss (CAL), presence of plaque and presence of bleeding on probing were assessed in six sites per tooth. In every subject, GCF from 4 gingivitis sites (PPD ≤ 3 mm and CAL ≤ 1 mm) and from 4 periodontitis sites (PPD ≥ 5 mm and CAL ≥ 3 mm) were collected with filter strips. The data were reported as total amount and concentration. IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF α , INF γ , MMP-8 and MMP-9 were analyzed by the Luminex[®] analyzer. IL-18 was analyzed using a commercially available ELISA assay and the elastase activity by an enzymatic reaction. The serum was also analysed and the correlations between the cytokines in the GCF and in the serum were calculated by Pearson correlation analysis. In gingivitis sites, the total amount of IL-4 was significantly lower in the UC group than in the CG group ($p=0.016$). In periodontitis sites, the total amount of IL-4 was significantly lower in CD group than in the CG group ($p=0.029$). The total amount of IL-4 was lower in UC group than in CD group ($p=0.077$). Similarly, IL-4 concentrations in both CD ($p=0.096$) and UC ($p=0.064$) groups were lower than in CG group. IL-6 total amount ($p=0.028$) and IL-6 concentration ($p=0.044$) were significantly higher in the UC group than in the CG group. In the serum, IL-18 levels were significantly higher in CD ($p=0.011$) and UC ($p=0.019$) groups than in the CG group. In UC group, there was a positive correlation between serum IL-18 levels and IL-1 β in the GCF ($r=0.667$, $p=0.01$). In conclusion, IBD patients had lower IL-4 levels in the GCF and higher IL-18 levels in the serum than healthy controls. The neutrophil function in IBD patients is similar to controls. Except for the positive correlation between IL-18 in the serum and IL-1 β in the GCF, there was no correlation between the cytokines in serum and in the GCF either in IBD patients or in controls. There was not a Th1 or Th2 polarization in the GCF from IBD patients.

Keywords: Periodontitis. Inflammatory bowel disease. Cytokines. Th cell profile.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Características clínicas dos pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles.....	34
Tabela 2-	Parâmetros clínicos periodontais de todos os dentes presentes na cavidade oral (A) e dos sítios com gengivite (B) e periodontite (C) selecionados para coleta do fluido gengival em pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles.....	35
Tabela 3-	Análise do fluido gengival dos sítios com gengivite dos pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles	37
Tabela 4-	Análise do fluido gengival dos sítios periodontite dos pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles	38
Tabela 5-	Comparação da quantidade dos mediadores inflamatórios no fluido gengival dos sítios com gengivite e periodontite em pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles.....	40
Tabela 6-	Comparação da concentração dos mediadores inflamatórios no fluido gengival dos sítios com gengivite e periodontite em pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles.....	41
Tabela 7-	Valores séricos das citocinas nos pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e controles.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent assay
FDA	Food and Drug Administration
GC	Grupo controle
IFN γ	Interferon gamma
IL	Interleucina
kDa	quilodalton
mAbs	miliabsorção
MMP	Metaloproteinase da matriz
ND	Não- detectado
NI	Nível de inserção
PB	Profundidade de bolsa
PBS	Solução salina fosfato-tamponada
rpm	Rotações por minuto
RCUI	Retocolite ulcerativa idiopática
SS	Sangramento a sondagem
Th	T auxiliares
TNF α	Fator de necrose tumoral alpha

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	12
1	REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1	Periodontite	14
1.2	Citocinas	14
1.3	Perfil Th1/Th2 e doenças crônico-inflamatórias	15
1.4	Perfil Th1/Th2 e doença periodontal	17
1.5	Citocinas no fluido gengival	18
1.6	Atividade dos neutrófilos na periodontite	20
1.7	Doença inflamatória intestinal	21
1.7.1	<u>Definição, epidemiologia, manifestações clínicas e histopatológicas</u>	21
1.7.2	<u>Patogênese</u>	23
1.7.3	<u>Citocinas na doença inflamatória intestinal</u>	24
1.7.4	<u>Tratamento e prognóstico</u>	24
1.8	Periodontite e doença inflamatória intestinal: mecanismos inflamatórios em comum	25
2	OBJETIVO	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Indivíduos Selecionados	28
3.2	Critérios de inclusão e exclusão	28
3.3	Aspectos éticos	28
3.4	Coleta dos dados	29
3.5	Exame clínico	29
3.6	Coleta do sangue	30
3.7	Coleta do fluido gengival	30
3.8	Análise por ELISA	31
3.9	Análise por LUMINEX	31
3.10	Ensaio da atividade de elastase	32
3.11	Análise Estatística	32
4	RESULTADOS	33
4.1	Características clínicas e periodontais	33
4.2	Análise do fluido gengival	36
4.3	Comparação entre sítios com gengivite e com periodontite	39
4.4	Análise do soro	42
4.5	Correlação do soro com o fluido gengival	43
5	DISCUSSÃO	44
6	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE A – Artigo: Prevalence of periodontitis and DMFT index in patients with Crohn’s disease and ulcerative colitis.....	62
	APÊNDICE B – Artigo: Inter-relação entre a doença periodontal e a doença de Crohn.....	68
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UERJ.....	74
	ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ.....	75

INTRODUÇÃO

A gengivite é um processo inflamatório reversível da gengiva, pois não há destruição dos tecidos de suporte dos dentes. A periodontite é uma condição crônico-inflamatória na qual ocorre destruição do ligamento periodontal, do osso alveolar e, em casos extremos, pode ocorrer a perda dos dentes. Sua prevalência e a severidade aumentam com a idade, pode afetar um número variável de dentes e apresentar diferentes taxas de progressão. Apesar da agressão bacteriana ser necessária para a ocorrência da periodontite, o papel central na patogênese da doença é exercido pela resposta do hospedeiro através do controle das respostas imune inata e adaptativa¹.

A doença inflamatória intestinal (DII) é constituída por duas desordens intestinais crônicas distintas: a doença de Crohn (DC) e a retocolite ulcerativa idiopática (RCUI)². A DII afeta cerca de 1.5 milhões de pessoas nos Estados Unidos da América e mais de 2 milhões de pessoas na Europa. Nos últimos dez anos, a incidência anual tem aumentado continuamente na Ásia, na Europa Ocidental e na América do Sul³. No Brasil, as taxas de prevalência, incidência e mortalidade ainda são desconhecidas, mas relatos regionais descrevem um aumento no número de novos casos⁴. O curso clínico da DII é caracterizado por remissões e recaídas variando em intensidade e necessitando, com frequência, de hospitalizações e cirurgia⁵. Conseqüentemente, a DII possui um grande impacto no bem-estar físico, emocional e no aspecto sócio-econômico dessas pessoas⁵. Sua patogênese ainda não foi elucidada, no entanto, sabe-se que anormalidades imunológicas distintas exercem um papel no início e na perpetuação da DII⁶.

Manifestações extra-intestinais podem ocorrer tanto na DC quanto na RCUI e incluem inflamação dos olhos, lesões cutâneas, osteoarticulares, pancreáticas e pulmonares⁷. As manifestações orais podem preceder, coincidir ou acompanhar o aparecimento dos sintomas intestinais⁸⁻¹⁰. Além das lesões orais, há um interesse sobre as principais doenças odontológicas nesses pacientes. Uma alta prevalência de cárie foi relatada nos pacientes com DC¹¹⁻¹³, mas não havia relatos sobre a prevalência de cárie nos pacientes com RCUI. Apenas dois estudos haviam avaliado a prevalência e a severidade da periodontite nos pacientes com DII¹⁴⁻¹⁵. Entretanto, como ambos os estudos apresentavam inconsistências e os exames eram parciais, ou seja, apenas alguns dentes foram examinados, a real prevalência da periodontite em pacientes com DII não havia sido estabelecida.

Através de um estudo transversal, observamos que pacientes com DII apresentavam maior prevalência de periodontite e possuíam um histórico maior de cárie¹⁶ do que pacientes sistemicamente saudáveis. Em nosso estudo, a destruição periodontal foi mais acentuada nos pacientes com RCUI do que nos pacientes com DC. Este achado sugere que a resposta à agressão do biofilme dental pode ser diferente entre os pacientes com essas duas doenças. Na realidade, DC e RCUI diferem em relação a sua imunopatogênese que envolve a diferenciação de células T auxiliares (Th). A DC é considerada uma doença do tipo Th1 enquanto a RCUI possui características de uma doença Th2².

A principal função das células T auxiliares é amplificar a resposta imune. Em geral, as citocinas Th1 favorecem o desenvolvimento de uma resposta imune celular enquanto citocinas Th2 favorecem uma resposta imune humoral. O conceito das células T auxiliares sugere que as citocinas Th1/Th2 regulam o equilíbrio entre proteção e agressão assim como o desenvolvimento e/ou a severidade de algumas desordens imunológicas¹⁷. Teorias têm sido postuladas a fim de explicar a suscetibilidade da doença periodontal no contexto do paradigma Th1/Th2¹⁸, entretanto, até o momento não há dados conclusivos.

A resposta imuno-inflamatória é o fator-chave tanto na periodontite quanto na DII^{1-2,6}. Em ambas as doenças há uma expressiva produção de mediadores inflamatórios¹⁹⁻²⁰. É provável que a maior prevalência de periodontite encontrada em pacientes com DII seja devido ao fato das duas doenças dividirem o mesmo perfil linfocitário. Nossa hipótese é a de que nos pacientes com DII que têm periodontite, a resposta inflamatória no periodonto seja influenciada pelo perfil das células Th.

Sendo assim, o objetivo dessa tese foi avaliar a expressão de citocinas Th1 (IL-12 e INF γ), citocinas Th2 (IL-4, IL-6 e IL-10) e das citocinas pró-inflamatórias IL-18, IL-1 β e TNF α no soro e no fluido gengival de sítios com gengivite e periodontite de pacientes com DC e RCUI. Além das citocinas, as metaloproteinases da matriz 8 e 9 (MMP-8 e MMP-9) e a atividade da elastase também foram mensuradas no fluido gengival a fim de avaliarmos a função dos neutrófilos. Os dados obtidos dos pacientes com DC e RCUI foram comparados com os dados obtidos de indivíduos saudáveis portadores de periodontite crônica.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Periodontite

As doenças periodontais são geralmente de natureza crônica e resultam da resposta do periodonto ao biofilme acumulado nos dentes. A gengivite é uma inflamação da gengiva que não compromete a dentição. A periodontite é caracterizada pela degradação do tecido conjuntivo seguida por migração do epitélio juncional e reabsorção óssea, podendo levar a perda dos dentes. As formas severas da periodontite afetam 10% a 15% da população adulta. Este percentual aumenta consideravelmente com a idade do indivíduo, atingindo um pico entre 50 e 60 anos de idade. A severidade da destruição periodontal varia de dente para dente e até mesmo de sítio para sítio em um mesmo dente no mesmo indivíduo²¹.

A presença da microflora subgengival patogênica não é suficiente para causar periodontite²². A natureza da resposta imune do hospedeiro a essa agressão microbiana é vital na determinação da suscetibilidade à doença. A suscetibilidade à periodontite varia significativamente entre os indivíduos^{1,19} e parece ser determinada geneticamente. No entanto, fatores locais e ambientais também contribuem para a expressão da doença²². É bem estabelecido que as citocinas exercem um papel central na regulação da resposta imune que governa a progressão da doença periodontal²³. O estudo das citocinas em sítios inflamados pode auxiliar no esclarecimento da patogênese da doença periodontal.

1.2 Citocinas

Citocinas são polipeptídeos solúveis, de baixo peso molecular, sintetizadas principalmente por células imunes que controlam a progressão das respostas imunes e inflamatórias. O termo citocina abrange diversas proteínas como os interferons, fatores de necrose tumoral, fatores estimuladores de colônias, interleucinas e fatores de crescimento. As citocinas podem ser divididas em várias famílias, são elas: (1) a família tipo I ou hematopoitinas que engloba várias interleucinas (IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21 e IL-23) e fatores de crescimento hematopoiéticos; (2) as citocinas

tipo II que incluem os interferons e a IL-10; (3) as moléculas relacionadas ao fator de necrose tumoral, linfotoxinas e o ligante Fas; (4) membros da superfamília Ig, incluindo a IL-1 e a IL-18 e (5) as quimiocinas, uma família de moléculas que exercem papéis críticos em uma ampla variedade de funções imunes e inflamatórias²⁴.

Apesar de serem produzidas em pequenas quantidades, as citocinas são muito potentes. São auto-reguladoras, capazes de induzir sua própria expressão de forma autócrina (na própria célula que a produziu) ou parácrina (em outras células) e possuem ações pleotrópicas (habilidade de induzir diferentes tipos de resposta) em vários tipos de células. As citocinas atuam nas suas células-alvo através da ligação com receptores específicos, iniciando mensagens intracelulares que resultam em alterações fenotípicas na célula. Muitas citocinas têm ação limitada quando distantes das células que a produziram. Isso é verdadeiro para várias citocinas do tipo I. Entretanto, outras citocinas atuam por difusão através dos fluidos extracelulares e do sangue para células-alvo que estão distantes das células produtoras. Entre essas citocinas, há as que possuem efeitos pró-inflamatórios como, por exemplo, a IL-6, o TNF e as quimiocinas que exercem um papel importante na regulação da migração dos leucócitos e outros tipos de células²⁴. Há uma significativa redundância e sobreposição entre as funções das citocinas. A consequência é que uma citocina não atua isoladamente, mas através de uma rede complexa e flexível unindo elementos da imunidade inata e adaptativa em defesa do hospedeiro contra infecções ou doenças²³. Conseqüentemente, a mensuração de uma única citocina não é suficiente para se obter uma impressão realística das interações biológicas complexas que ocorrem em nível celular²⁵.

Várias citocinas são produtos de células T mas não são produtos constitutivos dessas células, elas são produzidas quando as células T são ativadas²⁴. Os produtos das células T em resposta à ativação podem nos auxiliar na compreensão das interações biológicas envolvidas nos processos de saúde e doença¹⁷.

1.3 Perfil Th1/Th2 e doenças crônico-inflamatórias

Mosmann e Coffman²⁶ demonstraram que clones de células TCD4+ de ratos podiam ser classificados em subpopulações funcionais distintas baseado nos perfis de citocinas sintetizadas por essas células. O isolamento de clones Th1 e Th2 humanos por Romagnani²⁷

desencadeou um grande número de estudos sobre os efeitos do paradigma Th1/Th2 em humanos.

A principal função das células T auxiliares é amplificar a resposta imune. Tanto a subpopulação Th1 quanto a Th2 são produzidas por uma população de células T precursoras virgens. A diferenciação ocorre dentro de poucos dias de contato direto das células virgens com as células apresentadoras de antígeno. Este processo é denominado polarização e é guiado principalmente pelas citocinas presentes no microambiente no qual se encontra a célula T. Através da interação das citocinas com os receptores nas superfícies das células, ocorre a determinação para as células se diferenciarem em Th1, Th2 ou em outros tipos de células T²⁸.

As células Th1 secretam a IL-2, o INF γ e linfotoxinas enquanto as células Th2 secretam IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13. Em geral, as citocinas Th1 favorecem o desenvolvimento da resposta imune celular (respostas inflamatórias, hipersensibilidade do tipo tardia e citotoxicidade) enquanto citocinas Th2 favorecem a resposta imune humoral e respostas alérgicas. Entre as citocinas Th2, a IL-4 possui grande importância no direcionamento das respostas IgE. Algumas citocinas Th1/Th2 exercem uma regulação cruzada. Por exemplo, o INF γ diminui os níveis de citocinas Th2 enquanto a IL-4 e a IL-10 diminuem os níveis de citocinas Th1²⁹. Mais recentemente, tem sido demonstrado que outras células além das células TCD4⁺ são capazes de produzir citocinas Th1 e Th2. São elas: TCD8⁺, monócitos, células NK, células B, eosinófilos, mastócitos, basófilos entre outras células¹⁸.

O conceito Th1/Th2 sugere que as citocinas Th1/Th2 regulam o equilíbrio entre proteção e agressão assim como o desenvolvimento e/ou a severidade de algumas desordens imunológicas¹⁷. Algumas doenças como, por exemplo, diabetes mellitus tipo I, esclerose múltipla, artrite reumatóide, doença de Crohn e sarcoidose são caracterizadas por respostas Th1. Destacam-se como doenças caracterizadas pela resposta Th2: as desordens atípicas, esclerose sistêmica progressiva, progressão de tumores e progressão da infecção por HIV para AIDS. Os estudos clínicos sobre o domínio Th1/Th2 concentram-se no desenvolvimento de moléculas que possam ser utilizadas imunoterapeuticamente²⁸.

1.4 Perfil Th1/Th2 e doença periodontal

Teorias têm sido postuladas a fim de explicar a progressão da gengivite para a periodontite no contexto do paradigma Th1/Th2. Três modelos foram propostos, sendo que os dois primeiros são os mais estudados: (1) a periodontite como uma resposta Th2; (2) a periodontite como uma resposta Th1 e (3) a alteração da função dos monócitos pela IL-4 na periodontite¹⁸.

O modelo proposto por Seymour, Gemmell, Reinhardt, Eastcott e Taubman³⁰ sugere que as células Th1 estão associadas à gengivite enquanto as células Th2 estão associadas à periodontite. Como a maioria das células na lesão periodontal (65-70%) são células B ou plasmócitos, esses autores acreditam que as células Th2 e as citocinas relacionadas a essas células dominem sobre a resposta Th1.

No modelo proposto por Ebersole & Taubman³¹, as células Th1 são consideradas o resultado da destruição tecidual e as células Th2 são consideradas protetoras. Neste modelo, o INF- γ estimula principalmente monócitos assim como macrófagos a produzirem citocinas pró-inflamatórias e PGE2, resultando em uma condição local hiper-reativa levando à destruição do tecido conjuntivo e reabsorção do osso alveolar em pacientes suscetíveis.

No modelo proposto por Dennison & Van Dyke³², acredita-se que alterações na resposta dos monócitos podem levar à doença. A IL-4 inibe a secreção de citocinas e PGE2 pelos monócitos. É sugerido que, na gengivite, os altos níveis de IL-4 além de inibirem a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos também os induz à apoptose. Então, a destruição tecidual é controlada. Na periodontite, ocorreria o contrário: os baixos níveis de IL-4 levariam a uma sub-regulação das citocinas produzidas pelos macrófagos, o que geraria uma maior destruição tecidual. Esta hipótese é a menos explorada porque há poucos macrófagos nas lesões avançadas onde há maior destruição tecidual¹⁸.

Duas revisões de literatura discutiram o perfil Th1/Th2 na doença periodontal baseando-se em estudos publicados entre 1989 e 1999³³ e entre 1995 e 2004³⁴. No entanto, essas duas revisões não são conclusivas, pois a interpretação dos resultados dos estudos é prejudicada pelas diferenças metodológicas e achados contraditórios. Até o momento, nenhuma das 3 hipóteses propostas foi comprovada.

1.5 Citocinas no fluido gengival

O fluido gengival representa, em condição de saúde gengival, um transudato intersticial do tecido gengival. O fluido gengival é originário do plexo gengival dos vasos sanguíneos que nutrem o epitélio voltado para o espaço dentogengival. Na ocorrência de gengivite ou periodontite, o fluido gengival é considerado um exudato inflamatório. Ao atravessar os tecidos periodontais inflamados, o fluido transporta vários marcadores moleculares biológicos para o sulco gengival. Conseqüentemente, o fluido gengival contém uma mistura de moléculas provenientes do sangue, dos tecidos do hospedeiro e da placa subgengival. Estão presentes no fluido gengival proteínas, citocinas, anticorpos, antígenos bacterianos e enzimas derivadas tanto do hospedeiro quanto das bactérias³⁵. O fluido gengival também contém uma diversa população de células, sendo os neutrófilos as células predominantes³⁶.

No sulco sadio, a quantidade de fluido é muito pequena. Durante a inflamação, o fluxo do fluido gengival aumenta. O fluxo aumentado contribui para a defesa do hospedeiro por expelir colônias de bactérias e seus metabólitos do sulco, impedindo que eles penetrem no tecido³⁵. A coleta do fluido é uma técnica não-invasiva que tem sido utilizada para fins de pesquisa, já que o fluido funciona como uma janela para o periodonto. Vários mediadores inflamatórios e imunológicos têm sido estudados no fluido gengival. Entre esses mediadores, destacam-se as citocinas. Entretanto, poucos são os modelos que estudam o perfil Th1/Th2 na periodontia utilizando o fluido gengival como fonte de citocinas³³⁻³⁴.

A IL-1 β é a citocina mais estudada no fluido gengival. Estudos demonstraram níveis aumentados da IL-1 β no fluido gengival de sítios inflamados quando comparados a sítios saudáveis^{20, 37-41}. A IL-1 β também foi detectada em níveis mais elevados em sítios ativos do que em sítios inativos⁴². Concentrações significativamente mais altas de IL-1 β foram detectadas em indivíduos com periodontite severa do que em controles periodontalmente saudáveis⁴³ e níveis elevados de IL-1 β têm sido associados à severidade de doença periodontal⁴⁴.

Até o momento existem apenas 3 estudos sobre a IL-18 no fluido gengival. Dois estudos foram realizados em indivíduos sistemicamente saudáveis⁴⁵⁻⁴⁶ e mostraram que os níveis da IL-18 aumentam com o grau de destruição periodontal, isto é, níveis significativamente mais altos da IL-18 foram encontrados em indivíduos com periodontite do

que em indivíduos com gengivite. Já o estudo em indivíduos com lúpus juvenil sistêmico⁴⁷ demonstrou níveis significativamente mais baixos de IL-18 no fluido gengival desses indivíduos quando comparados a indivíduos sistemicamente saudáveis.

Também há apenas 3 estudos sobre a IL-12 no fluido gengival. Ao avaliar a expressão da IL-12 no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica, de pacientes com gengivite e de controles periodontalmente saudáveis, muito pouca IL-12 foi detectada nos três tipos de amostras. A quantidade total da IL-12 foi significativamente maior nos sítios com periodontite crônica do que nos sítios saudáveis. Entretanto, as concentrações da IL-12 não diferiram entre os grupos³⁷. Orozco, Gemmell, Bickel e Seymour⁴⁶ mensuraram os níveis da IL-12p70 e IL-12p40 no fluido gengival de pacientes com periodontite e gengivite. Em todas as amostras, a quantidade total da IL-12 detectada foi muito baixa. Foi demonstrado que, em pacientes com periodontite, a quantidade total de IL-12 foi significativamente maior nos sítios com periodontite do que nos sítios saudáveis ou com gengivite⁴⁸.

Maiores quantidades de TNF α foram demonstradas em bolsas profundas do que em bolsas rasas⁴⁹. Rossomando, Kennedy e Hadjimichael⁵⁰ demonstraram que o TNF α pode ser encontrado em sítios antes da doença ser observada clinicamente, sendo o TNF α um indicador de destruição periodontal.

As concentrações do INF γ no fluido gengival de indivíduos com periodontite severa foram similares as de indivíduos periodontalmente saudáveis⁴³. Após a raspagem radicular, foi demonstrada uma diminuição da quantidade total do INF γ no fluido gengival⁵¹.

A IL-4 não foi detectada nos sítios com periodontite em pacientes com grande destruição periodontal que necessitavam de extrações múltiplas⁵². Similarmente, foi demonstrado que a IL-4 estava presente em sítios com periodontite moderada, mas que não era detectada no fluido de sítios com inflamação severa, sugerindo que a ausência da IL-4 está associada a periodontite e a progressão da doença⁵³. Uma maior quantidade de IL-4 foi encontrada nos sítios saudáveis do que nos sítios doentes⁵⁴ e foi demonstrado um aumento nos níveis da IL-4 após o tratamento periodontal não-cirúrgico⁵¹.

Concentrações significativamente mais altas de IL-6 foram encontradas em indivíduos com periodontite do que em controles periodontalmente saudáveis^{43,54}. Também foi demonstrado que a quantidade total da IL-6 no fluido gengival se correlacionava positivamente com a severidade da periodontite em pacientes sistemicamente saudáveis⁵⁵.

No fluido gengival, a IL-10 foi detectada em apenas 43% dos sítios com periodontite e sua concentração era mais alta nos sítios com profundidade de bolsa entre 4 e 6mm do que

nos sítios com bolsas menores do que 3mm. Em bolsas maiores do que 6mm e após o tratamento periodontal, a IL-10 não foi detectada⁴⁰. Quantidades totais da IL-10 não diferiam entre os sítios doentes e não doentes tanto antes como depois da terapia periodontal não-cirúrgica⁵⁶.

1.6 Atividade dos neutrófilos na periodontite

Mais de 90% dos leucócitos no fluido gengival são neutrófilos. O número de neutrófilos aumenta de, aproximadamente, 7×10^4 para 20×10^4 por mL durante a conversão do sulco sadio para a bolsa periodontal. Paralelamente, o fluxo do fluido adjacente à superfície do dente aumenta de 1 para 5 $\mu\text{L}/\text{min}$. Então, 15 vezes mais neutrófilos migram para a bolsa periodontal quando há doença³⁶.

Os grânulos dos neutrófilos são classificados em primários (azurófilos), secundários (específicos) e terciários (gelatinase). Os grânulos azurófilos contêm enzimas neutras hidrolíticas como, por exemplo, a elastase e a mieloperoxidase. Os grânulos secundários contêm lactoferrina, collagenase neutrofilica (MMP-8) e lisozima. O principal componente dos grânulos terciários é a gelatinase B, também chamada de MMP-9. Enquanto a MMP-8 é capaz de degradar colágenos intersticiais, a MMP-9 degrada varias proteínas da matriz extracelular, inclusive o colágeno da membrana basal que é o colágeno tipo IV. Acredita-se que as principais MMPs neutrofilicas, a MMP-8 e MMP-9, sejam as principais responsáveis pela degradação do colágeno no tecido inflamado durante periodontite^{36,57-58}. A elastase facilita a transmigração dos neutrófilos através da membrana basal, pois degrada importantes proteínas da matriz extracelular como elastina, laminina, fibronectina e colágeno³⁵. No fluido gengival de sítios com periodontite, a atividade da elastase está associada à perda de inserção⁵⁹.

Neutrófilos hiper-reativos foram demonstrados na periodontite⁶⁰⁻⁶¹. A causa dessa hiper-reatividade pode ser uma característica constitucional dos neutrófilos ou uma pré-ativação dessas células circulantes. As substâncias que pré-ativam os neutrófilos podem ser originárias do hospedeiro como, por exemplo, citocinas inflamatórias e produtos da degradação tecidual⁶² ou das bactérias como, por exemplo, lipopolissacarídeos⁶³

1.7 Doença inflamatória intestinal

1.7.1 Definição, epidemiologia, manifestações clínicas e histopatológicas

A doença inflamatória intestinal é uma inflamação crônica idiopática que afeta o trato gastrointestinal. As duas principais formas da DII, a doença de Crohn (DC) e a retocolite ulcerativa (RCU), apesar de apresentarem semelhanças, são clínica, histológica e imunologicamente diferentes².

A DII afeta cerca de 1.5 milhões de pessoas nos Estados Unidos da América e mais de 2 milhões de pessoas na Europa. Nos últimos dez anos, a incidência anual tem aumentado continuamente na Ásia, na Europa Ocidental e na América do Sul³. Nos EUA, a RCUI apresenta a prevalência de, aproximadamente, 37 a 246 casos por 100.000 habitantes e a incidência de 2.2 a 14.3 casos por 100.000 habitantes. A prevalência da DC é de, aproximadamente, 26 a 199 casos para 100.000 habitantes e a incidência de 3.1 a 14.6 casos por 100.000 habitantes³. No Brasil, as taxas de prevalência, incidência e mortalidade ainda são desconhecidas, mas relatos regionais descrevem um aumento no número de novos casos⁴.

Ambas as doenças são mais comuns em indivíduos brancos e os sexos são igualmente afetados. No entanto, também há relatos de maior prevalência em mulheres⁶⁴⁻⁶⁶. A doença mostra um pico entre os 13 e 35 anos de idade, mas já foi descrita em todas as faixas etárias. Há uma incidência familiar de DII com transmissão vertical e horizontal na qual 2% a 5% das pessoas terão um ou mais parentes afetados. Na DC, qualquer parte do trato gastrointestinal pode ser afetada, mas o íleo terminal, o ceco, a área perianal e o cólon são mais comumente acometidos. Na RCUI, o processo inflamatório é restrito ao cólon e sempre envolve o reto². O diagnóstico da DII é baseado inicialmente na história clínica e confirmado através de métodos endoscópicos, radiológicos e patológicos. Os achados estão relacionados à localização anatômica das lesões, suas repercussões no estado geral do doente e à presença de complicações como estenoses, fístulas e abscessos.

Destacam-se como características clínicas da DC: diarreia, dor, estreitamento do lúmen do intestino, a formação de abscessos e de fístulas para pele e órgãos internos. Em 20% a 30% dos pacientes ocorre obstrução intestinal⁷. Na RCUI, a principal característica clínica é uma diarreia severa acompanhada de muco e sangue. O curso clínico da DII é caracterizado por remissões e recaídas variando em intensidade e necessitando, com frequência, de

hospitalizações e cirurgia⁵. Conseqüentemente, a DII possui um grande impacto no bem-estar físico, emocional e no aspecto sócio-econômico desses pacientes⁵. Por acometer principalmente adultos jovens, problemas como desemprego, abandono do emprego devido à doença e problemas com os estudos são bastante freqüentes⁶⁷⁻⁶⁸. Além disso, muitas pessoas se sentem constrangidas evitando lugares públicos devido à presença de diarréia, dor ou flatulência. Alguns pacientes tornam-se deprimidos pela possibilidade ou necessidade da cirurgia para a remoção da porção afetada do intestino⁶⁹.

As manifestações extra-intestinais ocorrem em 25% dos pacientes com DII e incluem inflamação dos olhos, lesões cutâneas, osteoarticulares, pancreáticas e pulmonares⁷. As manifestações orais da DII podem preceder, coincidir ou acompanhar o aparecimento dos sintomas intestinais⁸⁻¹⁰. A prevalência das manifestações orais na DII varia entre 0-9% em adultos^{10,70-72}. Pacientes com DII, principalmente com RCU, possuem um risco maior de carcinoma de cólon⁷.

A atividade da DII pode ser definida de acordo com os parâmetros clínicos, as manifestações sistêmicas e o impacto global da doença na qualidade de vida do indivíduo⁷³. Entre as várias classificações existentes, o Índice de Atividade da Doença de Crohn (CAI) é a mais utilizada para a DC⁷⁴. Quando o CAI é menor do que 150 pontos, considera-se o paciente em remissão; entre 150 e 250, a atividade é considerada leve; entre 250 e 350, a atividade é considerada moderada e, quando o CAI é maior do que 350 pontos, a atividade de doença é considerada grave. Na RCUI, um dos índices mais utilizados é o idealizado por Truelove e Witts⁷⁵. Através deste índice, a atividade da RCUI é classificada em leve, moderada e acentuada.

Com relação à histopatologia, na RCUI ocorre uma reação inflamatória contínua e uniforme envolvendo apenas a mucosa colônica que é acometida por neutrófilos, micro abscessos de criptas, linfócitos e macrófagos. O reto é acometido em 95% dos casos. Macroscopicamente, todos os segmentos afetados possuem um aspecto ulcerado, friável e hemorrágico⁷⁶. A DC caracteriza-se por uma inflamação granulomatosa crônica, descontínua, transmural e segmentar, envolvendo o mesentério e linfonodos regionais. A DC é classicamente associada à presença de granulomas não-caseosos. A formação de fistulas e abscessos são algumas das complicações da DC⁷⁶.

1.7.2 Patogênese

A DII possui etiologia desconhecida e multifatorial que envolve aspectos ambientais, genéticos, microbianos e imunológicos⁷⁷. Nenhum agente bacteriano, fúngico ou viral foi determinado como responsável pela DII. Juntamente com a predisposição genética, um gatilho ambiental ainda não estabelecido inicia o processo inflamatório do trato digestivo. Conseqüentemente, há uma resposta imunológica exacerbada e contínua que mantém esse processo⁷⁸. Estão envolvidos na DII leucócitos, macrófagos, neutrófilos, mastócitos, células B e T e há a produção aumentada de eicosanóides, citocinas, quimiocinas, fator ativador de plaquetas e metabólicos reativos do oxigênio¹⁹.

A resposta imune característica da DII é dominada por linfócitos TCD4+. A DC é caracterizada por uma resposta Th1⁷⁹. Na RCUI, no entanto, há o predomínio da resposta imune humoral, mas como não há evidência da produção de quantidades aumentadas da IL-4, a principal citocina indutora da resposta Th2, a RCUI é caracterizada como uma resposta Th2 modificada⁷⁹⁻⁸⁰. Na DC, as células T da mucosa são mais resistentes à apoptose¹⁹. Subclasses de imunoglobulinas que estão associadas à resposta Th1, como a IgG2, estão aumentadas na DC e as subclasses associadas à resposta Th2, como as IgG1 e IgG4, predominam na RCUI².

Entre os 4 componentes envolvidos na patogênese da DII, os maiores progressos têm ocorrido no aspecto genético. Alguns dos genes associados à DII são: CARD15/NOD2, CARD4/NOD1, HLA, TLR4, DLG5 e NF-κB1. Os fatores ambientais são considerados fatores de risco para a DII e incluem a dieta, drogas (contraceptivos orais, anti-inflamatórios não-esteroidais), estresse, a flora entérica, a localização geográfica do paciente, o status social e o tabagismo. Em relação ao aspecto imunológico, surgiram novas informações em relação ao papel das respostas inata e adaptativa na DII: (1) as respostas Th1 e Th2 na mucosa podem ser secundárias aos defeitos da resposta imune inata (receptores TLR); (2) disfunções nas células T reguladoras podem contribuir para as anormalidades imunológicas na mucosa e (3) as células recentemente descritas Th17 também estão envolvidas na resposta inflamatória da DII^{77, 81-82}.

1.7.3 Citocinas na doença inflamatória intestinal

Na DII, há a produção, entre outros mediadores, da IL-12, IL-18, IL-4, TNF α , IL-1, IL-6, IFN γ , IL-13, IL-5, fator de necrose tumoral β (TGF β) e IL-17⁸². A expressão aumentada de citocinas pró-inflamatórias ocorre principalmente na mucosa acometida pela DII e há variações na expressão dessas citocinas entre as duas formas de DII⁸³⁻⁸⁵.

Uma maior produção de mediadores inflamatórios é demonstrada em culturas de células mononucleares da mucosa de pacientes com DII⁸⁶, principalmente quando a doença está em atividade⁸⁷. Nem sempre os mediadores envolvidos na patogênese da DII são detectáveis na circulação⁸⁸. Recentemente, níveis séricos elevados da IL-18 têm sido mostrados em pacientes com DC⁸⁹⁻⁹¹.

1.7.4 Tratamento e prognóstico

O tratamento bem sucedido de pacientes com DII inclui três componentes essenciais: a indução e manutenção da remissão da doença, a promoção da cicatrização do epitélio da mucosa e a prevenção de complicações (estenose, fístulas e má-nutrição) associadas à doença^{73,92}.

O tratamento medicamentoso inclui antibióticos (ciprofloxacina, metronidazol), os derivados do ácido 5 aminosalicilato (mesalazina, sulfassalazina), corticóides (hidrocortisona, prednisona) e imunomoduladores (azatioprina, 6-mercaptopurina e metotrexato)^{7,92-93}.

O tratamento cirúrgico está indicado nas complicações (perfuração, obstrução), na ausência de resposta ao tratamento clínico e no comprometimento acentuado do crescimento em crianças⁷⁸. No caso da DC, mais de 2/3 dos pacientes terão complicações que necessitarão de cirurgia em algum momento de suas doenças⁹⁴. Entretanto, mesmo após a cirurgia, pode haver recidivas⁹⁵.

Em 1998, a aprovação do infliximabe pela FDA (Remicade, Centocor), um anticorpo monoclonal quimérico anti-TNF α para o tratamento da DC, deu início à era da terapia biológica no tratamento da DII. A inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias específicas, o bloqueio da ação dessas citocinas ou a administração de citocinas reguladoras

ou anti-inflamatórias deixaram de ser um conceito terapêutico e passaram a ser uma estratégia de tratamento na DII⁸⁰. As várias terapias que vêm sendo estudadas têm como princípios inibir a função das células T, bloquear a produção de citocinas pró-inflamatórias por células T ou induzir apoptose das células T. Então, estão sendo estudados anticorpos anti- células TCD4+, TCD3+, anticorpos contra o receptor da IL-12 (anti-CD25), anticorpos anti- IL-12, anti-IFN γ e anti-IL-6. A administração da IL-10 e outras alternativas farmacológicas anti-TNF α também vêm sendo testadas. Uma alternativa também em fase experimental é o bloqueio da migração dos leucócitos para as áreas de inflamação através de interferências nas moléculas de adesão celular⁹⁶.

1.8 Periodontite e DII: mecanismos inflamatórios em comum

Previamente ao nosso estudo¹⁶, apenas dois estudos haviam avaliado a prevalência e a severidade da periodontite em pacientes com DII¹⁴⁻¹⁵. Ambos os estudos concluíram que devido ao fato da periodontite não ser severa, pacientes com DII não precisariam de cuidados especiais. Conseqüentemente, as possíveis causas da maior suscetibilidade à periodontite nesses pacientes nunca foi investigada.

A resposta imuno-inflamatória é o fator-chave tanto na periodontite quanto na DII, duas doenças caracterizadas por uma expressiva produção local de vários mediadores inflamatórios^{1,20,79,82,92}. A existência de mecanismos inflamatórios e de destruição tecidual similares pode ser a provável causa da maior prevalência de periodontite moderada a severa que encontramos em pacientes com DII através de um estudo prévio¹⁶. Uma possibilidade de esclarecimento dessa questão pode ser através do estudo das citocinas e mediadores de destruição tecidual que exercem um papel de destaque nas duas doenças.

As principais funções biológicas de algumas citocinas envolvidas tanto na DII quanto na periodontite são apresentadas no quadro a seguir (para revisão, ler: Paul²⁴, Leonard²⁹, Moldawer⁹⁷ e Dinarello⁹⁸):

IL-18	Citocina pró-inflamatória e supressora de tumores pertencente à família da citocina IL-1. É produzida e armazenada na forma precursora com 24 kilodaltons (kDa) e necessita ser clivada pela caspase-1 (enzima conversora da IL-1 β) para ser secretada na forma biologicamente ativa com 18kDa. É expressa em células imunes como células dendríticas e macrófagos ativados e também em células não-imunes como por exemplo, queratinócitos da pele, células do epitélio intestinal, células secretórias glandulares e células sinoviais. A IL-18 tem a capacidade de induzir a diferenciação tanto Th1 quanto Th2. O receptor da IL-18 (IL-18R) é encontrado em células T, células NK, células B e células dendríticas. A IL-18 é capaz de induzir o TNF α e a IL-1 β e o aumento da expressão de marcadores pró-inflamatórios como quimiocinas, óxido nítrico, moléculas de adesão e MMP-9. A IL-18 intensifica a produção do óxido nítrico e dos intermediários reativos do oxigênio em macrófagos e neutrófilos. Várias doenças são caracterizadas pela produção da IL-18.
IL-1 β	Produzida na forma precursora inativa, necessita ser clivada pela mesma enzima que cliva a IL-18, a enzima caspase-1 (enzima conversora da IL-1 β). Após a clivagem, a forma madura da IL-1 β possui 17.5 kDa. As principais fontes da IL-1 β são monócitos, macrófagos e células dendríticas. Linfócitos B e células NK também são outras fontes. Os queratinócitos produzem IL-1 β em condições inflamatórias, mas não há expressão constitutiva da IL-1 β nessas células. As atividades biológicas da IL-1 β são relevantes tanto para a inflamação sistêmica (indução de proteínas de fase aguda) quanto para a inflamação local. A IL-1 β também estimula a síntese da prostaglandina E2.
TNF α	Produzido como uma proteína transmembrana com 26 kDa, com uma extensão intracelular que é clivada pela enzima TNF α metaloproteinase convertase. É secretado como uma proteína solúvel de 17 kDa. O TNF α associado à membrana é biologicamente ativo e medeia efeitos citotóxicos e inflamatórios através do contato célula à célula. O TNF α é produzido principalmente por macrófagos e monócitos, mas também é produzido por outras células imunes (células B e T, basófilos, eosinófilos, células dendríticas, células NK, neutrófilos e mastócitos), células não-imunes (fibroblastos, queratinócitos, osteoblastos, células da musculatura lisa, entre outras) e vários tipos de células tumorais. Em macrófagos, a síntese do TNF α é induzida por estímulos biológicos (vírus, produtos bacterianos e parasitários), estímulos químicos e físicos, células tumorais, células do sistema complemento, citocinas (IL-1, IL-2, IFN γ , o próprio TNF α), isquemia, trauma e irradiação. O TNF α é um potente indutor da resposta inflamatória e é o regulador central da resposta imune inata. Além de estar envolvido na inflamação tecidual e injúria, o TNF α também ativa o processo de morte celular programada através da apoptose. O TNF α exerce um papel importante na regulação da resposta imune do tipo Th1, o que é de extrema importância para a patogênese de várias doenças crônico-inflamatórias como a DII e a artrite reumatóide. O TNF α induz a síntese da IL-12 e IL-18, dois potentes indutores do IFN γ . As respostas biológicas ao TNF α são mediadas através de dois receptores estruturalmente distintos TNF-RI e TNF-RII. No entanto, quando clivados, tornam-se receptores solúveis que podem ser ligar ao próprio TNF α atuando como seu inibidor natural.
IL-12	É uma citocina pró-inflamatória, indutora única da diferenciação das células Th1. A IL-12 é um dímero covalente de 35- e 40-kDa peptídeos (p35 e p40) que formam a IL-12 bioativa (p70). A IL-12 é produzida principalmente por células fagocíticas (principalmente macrófagos e monócitos) em resposta à bactérias, produtos bacterianos e parasitas intracelulares. Também é produzida por células apresentadoras de antígeno como, por exemplo, as células B. As unidades IL-12R β 1 e IL-12R β 2 são necessárias para formação do receptor funcional da IL-12, entretanto, a expressão da subunidade β 2 é crucial no controle da diferenciação da linhagem das células Th1. A subunidade p40 atua como antagonista, impedindo a ligação da IL-12 bioativa ao seu receptor. Todas as células que produzem a IL-12 sintetizam uma quantidade muito maior da subunidade p40 do que da unidade p35, o que sugere que um controle cuidadoso de sua sinalização.
IFN γ	É um homodímero com peso molecular de 34 kDa, produzido apenas por células NK, células TCD8+ e células TCD4+ Th1. O IFN γ exerce seus efeitos através de receptores específicos expressos em todas as células com exceção dos eritrócitos. O IFN γ ativa os macrófagos aumentando a capacidade de fagocitose e inibe as principais atividades da IL-4. A produção normal do IFN γ é dependente da IL-12 e a presença do IFN γ parece ser um pré-requisito para a indução de células Th1. Seu receptor funcional humano consiste de duas cadeias: IFNGR-1 e IFNGR-2.
IL-4	É produzida principalmente por células TCD4+ ativadas, mas também é produzida por mastócitos e basófilos. É o principal fator de crescimento das células B e é vital na diferenciação das classes das imunoglobulinas (Ig), aumentando a secreção das IgG e IgE. A IL-4 induz a expressão das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) tipo II em células B. A IL-4 também atua como um fator de crescimento de células T, induzindo a diferenciação Th2. A IL-4 diminui a função dos macrófagos e induz apoptose em monócitos. Também diminui a expressão de citocinas inflamatórias, incluindo IL-1, TNF α , TNF β e IL-6. A IL-4 é capaz de reduzir os receptores da IL-2 e, desta forma, inibir algumas atividades induzidas por essa citocinas. O receptor da IL-4 nas células T e em hematopoiéticas consiste de uma proteína de 140kDa: IL4R α e γ c.
IL-6	É uma citocina com múltiplas funções. Suas atividades biológicas incluem a diferenciação de células B, diferenciação e crescimento de células T, indução da diferenciação das células mielóides em macrófagos, estímulo à secreção das imunoglobulinas IgG e IgA, indução da síntese de proteínas de fase aguda pelos hepatócitos e ativação da cascata do sistema complemento. Também atua nos queratinócitos, células do sistema hematopoiético e no desenvolvimento de osteoclastos. A IL-6 se liga à proteína IL-6R α , formando o complexo IL-6/IL-6R α que interage e recruta a molécula transdutora de sinal, a molécula gp130. Junto com a IL-6R α , a molécula gp130 pode formar o receptor funcional da IL-6. Apenas os hepatócitos, monócitos e macrófagos expressam o receptor da IL-6 em sua superfície. Entretanto, vários tipos de células expressam a subunidade gp130. Então, diferentes sinais são induzidos pela IL-6 quando o complexo IL-6/ IL-6R α ativa as células gp130 positivas.
IL-10	É uma proteína de 18 kDa produzida por células T ativadas, células B, monócitos e queratinócitos. Possui um papel importante na supressão da resposta inflamatória, pois inibe a expressão de moléculas do complexo MHC do tipo II e, conseqüentemente, a apresentação de antígenos em monócitos e em macrófagos. Também inibe a ativação das células T e a produção das citocinas IL-1, IL-2, IL-3, IFN γ , TNF α e o GM-CSF.

Quadro – Funções biológicas de algumas citocinas pró-inflamatórias, citocinas Th1 e citocinas Th2 estudadas na doença inflamatória intestinal e na periodontite

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar o perfil Th1/Th2 no fluido gengival de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal com periodontite crônica.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a expressão das citocinas Th1 (IL-12 e $\text{INF}\gamma$), citocinas Th2 (IL-4, IL-6 e IL-10) e das citocinas pró-inflamatórias IL-18, IL-1 β e $\text{TNF}\alpha$ no fluido gengival dos sítios com gengivite e periodontite de pacientes com doença de Crohn, retocolite ulcerativa idiopática e indivíduos saudáveis.
- Avaliar a função dos neutrófilos através da mensuração das metaloproteinases da matriz 8 e 9 (MMP-8 e MMP-9) e a atividade da elastase no fluido gengival desses pacientes.
- Correlacionar a expressão das citocinas no fluido gengival com a expressão das citocinas no soro.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Indivíduos Selecionados

Quinze pacientes com DC (idade média 38.2 ± 11.4 anos) e 15 pacientes com RCUI (idade média 45.0 ± 10.5 anos) portadores de periodontite crônica foram selecionados de um estudo previamente realizado sobre a prevalência de periodontite em pacientes com DII¹⁶. Os pacientes eram acompanhados nos ambulatórios de DII do Hospital Universitário Pedro Ernesto-Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HUPE-UERJ) e do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho-Universidade Federal do Rio de Janeiro (HUCFF-UFRJ), ambos localizados na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. O grupo controle foi constituído por 15 indivíduos (idade média 42.1 ± 7.8 anos) sem sinais de doenças sistêmicas, que tinham periodontite crônica e haviam participado do mesmo estudo de prevalência¹⁶.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram considerados como critério de inclusão: ter participado do estudo prévio sobre a prevalência de periodontite em pacientes com DII¹⁶ e possuir, pelo menos, 4 sítios com periodontite e 4 sítios com gengivite em dentes diferentes. Os participantes deveriam possuir, no mínimo, 8 dentes. Foram considerados como critérios de exclusão: gravidez, tratamento periodontal prévio e uso de antibióticos há menos de seis meses da realização da coleta do fluido gengival.

3.3 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UERJ (projeto 1192-CEP/HUPE-CAAE: 0081.0.228.000-05) e HUCFF (projeto 107/06-CEP/HUCFF). Os pacientes assinaram um Termo de Consentimento antes de serem examinados.

3.4 Coleta dos dados

Os integrantes de cada grupo foram entrevistados através de um questionário no qual constavam os seguintes dados: sexo, etnia (branco, pardo ou negro), idade, hábito de fumar (fumante, não fumante ou ex-fumante), duração do hábito de fumar, a quantidade de cigarros por dia, tempo da doença inflamatória intestinal, história familiar, localização da doença, tipo da doença, presença de manifestações extra-intestinais, medicamentos utilizados específicos ou não para a DII, resposta ao tratamento com esteróides, história prévia de doença cardiovascular (hipertensão, coronariopatias), tratamento periodontal anterior. Os dados obtidos no questionário foram posteriormente confirmados com os dados obtidos dos prontuários médicos. A atividade da DII foi avaliada clinicamente e laboratorialmente empregando-se o índice de atividade da doença de Crohn (CDAI)⁷⁴ e Truelove e Witts⁷⁵ para a RCUI.

Os pacientes do grupo DC utilizavam como medicação: imunomoduladores (n=6), derivados do ácido 5 aminosalicilato (n=2), corticóides (n=4), imunomoduladores + derivados do ácido 5 aminosalicilato (n=1). Dois pacientes do grupo DC não tomavam nenhuma medicação. Os pacientes do grupo RCUI utilizavam como medicação: derivados do ácido 5 aminosalicilato (n=8), imunomoduladores (n=1), corticóides (n=2) e imunomoduladores + derivados do ácido 5 aminosalicilato (n=4).

3.5 Exame clínico

Todos os dentes presentes, com exceção dos terceiros molares, foram examinados. As mensurações foram realizadas em seis sítios por dente (disto-vestibular, vestibular, mesio-vestibular, disto-lingual, lingual e mesio-lingual). Os parâmetros clínicos avaliados foram: (1) profundidade de bolsa (PB), distância entre a margem gengival e a porção mais apical sondável, (2) nível de inserção clínica (NI), distância entre a junção amelo-cementária e a porção mais apical sondável, (3) presença de placa e (4) presença de sangramento a sondagem (SS).

A sonda utilizada para realização de todas as medidas foi uma sonda periodontal milimetrada (PCR 15, Hu-Friedy[®], Chicago, IL, EUA). O exame clínico e a coleta das

amostras foram realizados por duas examinadoras previamente calibradas ($\kappa=0.775$, $p<0.001$).

3.6 Coleta do sangue

Foram coletados aproximadamente 8 mL de sangue de cada paciente em um tubo tijolo (Vacutainer[®], Juiz de Fora, Brasil) de 10mL, a vácuo com gel, pelas enfermeiras do HUPE ou do HUCFF. Após a coleta, o material foi centrifugado por 5 minutos. O soro foi congelado a -80°C até o momento da análise que foi realizada no laboratório do Departamento de Periodontia do Karolinska Institutet (Estocolmo, Suécia). Em um paciente do grupo DC o soro não foi coletado.

3.7 Coleta do fluido gengival

Em cada paciente, o fluido de sítios inflamados, 4 com periodontite ($\text{PB} \geq 5 \text{ mm}$ e $\text{NI} \geq 3\text{mm}$) e 4 com gengivite ($\text{PB} \leq 3 \text{ mm}$ e $\text{NI} \leq 1 \text{ mm}$), foram analisados. Os sítios selecionados para análise foram isolados com rolos de algodão e, quando necessário, a placa supragengival foi removida. Os sítios foram secados levemente com uma seringa de ar. O fluido gengival foi coletado através de pontas de papel absorvente pré-fabricadas (ProFlow, Inc., Amityville, NY, EUA). A ponta de papel era introduzida na bolsa até que uma leve resistência fosse sentida e permaneceu no local da coleta durante 30 segundos. As amostras contendo sangue foram descartadas. A quantidade de fluido coletada em cada ponta de papel foi determinada pelo Periotron 8000[®] (IDE, Interstate, Amityville, NY, EUA) previamente calibrado. As leituras do Periotron[®] foram convertidas em volume utilizando como referência a curva padrão obtida durante a calibragem do aparelho. Em cada pessoa, as pontas de papel provenientes da mesma categoria de análise (periodontite ou gengivite) foram agrupadas em um frasco tipo Eppendorf e diluídas em 1 mL de solução salina fosfato-tamponada (PBS). Após diluição por 40 minutos em temperatura ambiente, as pontas de papel foram removidas e as amostras foram imediatamente centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e

congelado a -80°C até o momento da análise. A análise dos dados foi realizada no laboratório do departamento de periodontia do Karolinska Institutet (Estocolmo, Suécia).

3.8 Análise por ELISA

O imunoensaio ELISA foi utilizado para mensuração da IL-18. Cem microlitros (μL) de fluido gengival foram analisados utilizando um kit comercial (ELISA MBL, Nagoya, Japão), de forma duplicada, de acordo com as recomendações do fabricante. Para a análise da IL-18 no soro, uma diluição de duas vezes foi realizada através da adição de $55\mu\text{L}$ do diluente em $55\mu\text{L}$ de soro, constituindo $100\mu\text{L}$ em cada poço. As amostras do soro também foram duplicadas. A leitura foi realizada em um espectrofotômetro (Millenia Kinetic Analyser, Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA, EUA) a 450nm de comprimento de onda.

3.9 Análise por LUMINEX

A tecnologia multiplex segue os mesmos princípios do ELISA, sendo que os anticorpos específicos para as citocinas são ligados covalentemente a marcadores fluorescentes que são detectados em um citômetro de fluxo modificado. Essa tecnologia permite, através de um pequeno volume de amostra, a avaliação simultânea de numerosas citocinas e mediadores^{25, 99-100}.

A análise com o LUMINEX[®] (xMAP technology, Luminex, Austin, Texas, EUA) foi utilizada para mensuração de IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF α e INF γ . Cinquenta μL de fluido gengival e $50\mu\text{L}$ de soro foram analisados utilizando um kit comercial Lincoplex[®] (Millipore, Missouri, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. Os resultados foram calculados pelo programa *Bio-Plex Manager Software* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA).

O LUMINEX[®] também foi utilizado para a mensuração das MMP-8 e MMP-9. Uma diluição de 20 vezes foi realizada através da adição de $10\mu\text{L}$ de fluido gengival em $180\mu\text{L}$ de diluente. As amostras foram analisadas de acordo com as recomendações do fabricante do kit

(R&D Systems Minneapolis, MN, USA). Os resultados foram calculados pelo programa *Bio-Plex Manager Software* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA).

3.10 Ensaio da atividade de elastase

Cem μL de fluido gengival foram misturados com 67 μL de substrato S-2484 (L-piroglutamil-L-prolil-L-valina-p-nitroanilina, mw 445.5 Da) (Chromogenix AB, Möndal, Suécia) em placas de microtitulação com 96 poços (Nunc Maxisorp, Nunc, Roskilde, Dinamarca). A mistura foi incubada a $+37^\circ\text{C}$ e lida após 2 horas em um espectrofotômetro (Millenia Kinetic Analyser, Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA, EUA) a 405nm de comprimento de onda. A atividade de elastase foi expressa em mAbs.

3.11 Análise Estatística

Valores distribuídos normalmente foram apresentados através de média e desvio-padrão enquanto que valores não distribuídos normalmente foram apresentados como mediana e intervalo interquartil. O teste T foi utilizado para a comparação de dados paramétricos. O teste Mann-Whitney U foi utilizado para comparar os dados não-paramétricos entre os grupos. O teste de Wilcoxon foi utilizado para comparar dados não-paramétricos entre os sítios com gengivite e periodontite no mesmo grupo. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado na análise da correlação entre as citocinas no soro e no fluido. O nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0.05$). As análises foram realizadas no programa STATISTICA versão 7.1 (StatSoft, Inc. 2005).

4 RESULTADOS

4.1 Características clínicas e periodontais

Os três grupos examinados eram semelhantes em relação à idade, gênero e raça. O número de indivíduos ex-fumantes era significativamente maior no grupo RCUI do que no grupo GC (Tabela 1, página 34).

Avaliando as características periodontais obtidas através do exame periodontal de todos os dentes presentes, os três grupos eram semelhantes exceto pelo fato que a profundidade de bolsa no grupo GC era significativamente menor do que a dos grupos DC ($p < 0.0001$) e RCUI ($p < 0.0001$) (Tabela 2A, página 35). Nos três grupos, os sítios com gengivite selecionados para a coleta do fluido gengival (Tabela 2B, página 35) eram semelhantes em relação à quantidade de placa, ao nível de inserção e ao volume de fluido gengival. A profundidade de bolsa do grupo DC era significativamente menor do que a do grupo GC ($p < 0.036$). Nos sítios com periodontite (Tabela 2C, página 35), os parâmetros periodontais eram similares nos grupos DC, RCUI e GC.

Tabela 1 - Características clínicas dos pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

	<i>DC</i> (<i>n=15</i>)	<i>p1</i>	<i>GC</i> (<i>n=15</i>)	<i>p2</i>	<i>RCUI</i> (<i>n=15</i>)	<i>p3</i>
Idade	38.2 (11.5)	0.085	43.3 (7.2)	0.157	45.0 (10.5)	0.749
Homens	8 (53.3%)	0.715	7 (46.7%)	1.000	7 (46.7%)	0.715
Mulheres	7 (46.7%)	0.715	8 (53.3%)	1.000	8 (53.3%)	0.715
Branços	9 (60.0%)	0.273	7 (46.7%)	0.712	6 (40.0%)	0.273
Pardos	6 (40.0%)	1.000	6 (40.0%)	0.464	8 (53.3%)	0.464
Negros	0	0.143	2 (13.3%)	0.542	1 (6.7%)	0.309
Fumantes	3 (20.0%)	0.624	2 (13.3%)	0.542	1 (6.7%)	0.282
Não - fumantes	8 (53.3%)	0.255	11 (73.3%)	0.136	7 (46.7%)	0.715
Ex-fumantes	4 (26.7%)	0.361	2 (13.3%)	0.046	7 (46.7%)	0.255
Hipertensos	3 (20.0%)	0.067	0	0.067	3 (20.0%)	1.0
Diabéticos	0	0.309	0	0.309	1 (6.7%)	0.309
História familiar de DII	4 (26.7%)		0		1 (6.7%)	0.141
Tempo de diagnóstico da DII (meses)	48 (156)				84 (65.4)	0.358
Manifestações extra- intestinais	6 (40.0%)				8 (53.3%)	0.464
Doença ativa	5 (33.3%)				3 (20.0%)	0.409

Os dados são apresentados como número de indivíduos e porcentagem. A idade é expressa em média e desvio-padrão (teste T). O tempo de diagnóstico de doença é expresso em mediana e variação interquartil (teste de Mann-Whitney U). Para todas as outras variáveis o teste χ^2 foi utilizado.

p1 significância da diferença entre os grupos DC e GC, p2 significância da diferença entre os grupos RCUI e GC, p3 significância da diferença entre os grupos DC e RCUI. DII doença inflamatória intestinal.

Tabela 2 - Parâmetros clínicos periodontais de todos os dentes presentes na cavidade oral (A) e dos sítios com gengivite (B) e periodontite (C) selecionados para coleta do fluido gengival em pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

<i>2A Parâmetros clínicos periodontais</i>						
	DC (n= 15)	p1	GC (n= 15)	p2	RCUI (n= 15)	p3
Número de dentes	22.9 (5.0)	0.806	23.7 (4.0)	0.197	21.3 (5.2)	0.263
% sítios com placa	45.4 (33.3)	0.336	54.5 (24.0)	0.355	47.8 (29.9)	0.664
% sítios com SS	34.9 (26.4)	0.651	29.6 (19.8)	0.762	29.0 (14.5)	0.763
PB (mm)	2.5 (0.7)	<0.0001	1.5 (0.2)	<0.0001	2.6 (0.6)	0.909
NI (mm)	1.6 (0.9)	0.485	1.4 (1.0)	0.064	1.9 (1.0)	0.308
% sítios NI \geq 3 mm	13.6 (14.4)	0.651	14.6 (20.0)	0.086	23.0 (18.0)	0.126
% sítios NI \geq 4 mm	6.8 (10.0)	0.720	9.5 (16.3)	0.352	11.3 (13.2)	0.229

<i>2B Parâmetros clínicos dos sítios com gengivite selecionados para coleta do fluido gengival.</i>						
	DC (n= 15)	p1	GC (n= 15)	p2	RCUI (n= 15)	p3
PB (mm)	2.7 (0.5)	0.036	3.0 (0.4)	0.056	2.5 (0.8)	0.597
NI (mm)	0.7 (0.5)	0.072	1.0 (0.2)	0.469	1.0 (0.5)	0.486
% sítios com placa	50.0 (100.0)	0.078	100.0 (50.0)	0.168	60.0 (80.0)	0.594
Volume (μ L)	1.9 (0.9)	0.785	1.8 (0.8)	0.921	1.8 (1.2)	0.758

<i>2C Parâmetros clínicos dos sítios com periodontite selecionados para coleta do fluido gengival.</i>						
	DC (n= 15)	p1	GC (n= 15)	p2	RCUI (n= 15)	p3
PB (mm)	5.2 (1.5)	0.517	5.0 (0.8)	0.646	5.2 (1.3)	0.754
NI (mm)	3.7 (2.7)	0.466	3.0 (1.2)	0.288	4.0 (1.2)	0.867
% sítios com placa	66.7 (75.0)	0.698	75.0 (75.0)	0.347	60.0 (80.0)	0.627
Volume (μ L)	2.9 (1.0)	0.545	2.6 (1.1)	0.388	3.0 (1.5)	0.684

Os dados são apresentados em mediana e variação interquartil (teste de Mann-Whitney U). O volume e o número de dentes são expressos em média e desvio-padrão. p1 significância da diferença entre os grupos DC e GC, p2 significância da diferença entre os grupos RCUI e GC, p3 significância da diferença entre os grupos DC e RCUI. SS sangramento a sondagem, PB profundidade de bolsa, NI nível de inserção.

4.2 Análise do fluido gengival

Nos sítios com gengivite, a quantidade total da IL-18 foi significativamente menor no grupo DC do que no grupo GC ($p=0.02$), enquanto que a quantidade total da IL-4 foi significativamente menor no grupo RCUI do que no grupo GC ($p=0.016$). Quando as concentrações das citocinas foram comparadas entre os grupos, não houve diferenças. As citocinas IL-10, IL-12 e $TNF\alpha$ não foram detectadas nos sítios com gengivite. Não houve diferença entre os grupos em relação à atividade da elastase (Tabela 3, página 37).

Nos sítios com periodontite, a quantidade total da IL-4 foi significativamente menor no grupo DC do que no grupo GC ($p=0.029$). A IL-4 mostrou uma tendência a menor quantidade no grupo RCUI quando comparada ao grupo GC ($p=0.077$). A mesma tendência ocorreu com relação à concentração da IL-4 nos grupos DC ($p=0.096$) e RCUI ($p=0.064$) quando comparados ao grupo GC. A quantidade total da IL-6 ($p=0.028$) assim como sua concentração ($p=0.044$) foram significativamente maiores no grupo RCUI do que no grupo GC. A IL-12 e o $TNF\alpha$ não foram encontrados nos sítios com periodontite. Não houve diferenças entre os grupos em relação à atividade dos neutrófilos, demonstrada através da atividade da elastase e dos níveis das MMP-8 e MMP-9 (Tabela 4, página 38).

Tabela 3 - Análise do fluido gengival dos sítios com gengivite dos pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

	<i>DC</i> (<i>n</i> = 15)	<i>p</i> 1	<i>GC</i> (<i>n</i> = 15)	<i>p</i> 2	<i>RCUI</i> (<i>n</i> = 15)	<i>p</i> 3
Função dos Neutrófilos						
Elastase (mAbs)	0.3 (0.1)	0.329	0.2 (0.1)	0.520	0.2 (0.2)	0.819
Citocinas (pg)						
IL-18	37.9 (11.7)	0.02	48.7 (42.8)	0.395	43.9 (23.4)	0.158
IL-1β	0.4 (1.3)	0.617	1.2 (2.0)	0.295	0.7 (1.3)	0.517
TNFα	ND		ND		ND	
IL-4	0.7 (1.5)	0.256	1.2 (2.1)	0.016	0 (0.8)	0.136
IL-6	0 (0.0)	0.631	0 (0.0)	0.324	0 (0.7)	0.123
IL-10	ND		ND		ND	
IL-12p70	ND		ND		ND	
INFγ	0 (0.2)	0.313	0 (0.0)	0.359	0 (0.2)	0.901
Função dos Neutrófilos						
Elastase (mAbs/μL)	0.1 (0.1)	0.604	0.1 (0.1)	0.254	0.2 (0.3)	0.418
Citocinas (pg/μL)						
IL-18	24.0 (28.6)	0.191	29.6 (31.3)	0.604	38.5 (65.5)	0.110
IL-1β	0.2 (0.9)	0.786	0.6 (0.9)	0.167	0.2 (0.6)	0.392
TNFα	ND		ND		ND	
IL-4	0.2 (1.0)	0.214	0.9 (1.7)	0.059	0 (0.5)	0.293
IL-6	0 (0.0)	0.677	0 (0.0)	0.324	0 (0.2)	0.188
IL-10	ND		ND		ND	
IL-12 p70	ND		ND		ND	
INFγ	0 (0.1)	0.224	0 (0.2)	0.207	0 (0.1)	0.901

Os dados são apresentados em quantidade total e concentração através da mediana e variação interquartil (teste de Mann-Whitney U). p1 significância da diferença entre os grupos DC e GC, p2 significância da diferença entre os grupos RCUI e GC, p3 significância da diferença entre os grupos DC e RCUI.
pg picograma, mAbs miliabsorção, μL microlitro, ND não detectado.

Tabela 4 - Análise do fluido gengival dos sítios periodontite dos pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

	<i>DC</i> (<i>n</i> = 15)	<i>p1</i>	<i>GC</i> (<i>n</i> = 15)	<i>p2</i>	<i>RCUI</i> (<i>n</i> = 15)	<i>p3</i>
Função dos Neutrófilos						
Elastase (mAbs)	0.3 (0.1)	0.524	0.3 (0.1)	0.148	0.3 (0.2)	0.372
MMP-8 (pg)	19.3 (14.6)	0.566	23.1 (20.7)	0.446	28.5 (17.0)	0.125
MMP-9 (pg)	25.6 (83.1)	0.372	35.5 (41.6)	0.851	35.9 (154.0)	0.663
Citocinas (pg)						
IL-18	31.1 (21.5)	0.520	28.4 (32.4)	0.693	35.3 (22.2)	0.213
IL-1β	2.5 (3.4)	0.394	1.3 (1.6)	0.339	2.0 (5.6)	0.708
TNFα	ND		ND		ND	
IL-4	0.9 (1.0)	0.029	1.9 (2.6)	0.077	1.0 (1.7)	0.819
IL-6	0 (0.9)	0.497	0 (0.3)	0.028	0.3 (0.6)	0.110
IL-10	0 (0.2)	0.342	0 (0.0)	0.122	0 (0.2)	0.569
IL-12p70	ND		ND		ND	
INFγ	0.1 (0.5)	0.144	0.3 (0.5)	0.464	0.2 (0.5)	0.406
Função dos Neutrófilos						
Elastase (mAbs/μL)	0.1 (0.1)	0.917	0.1 (0.1)	0.604	0.1 (0.2)	0.493
MMP-8 (pg/μL)	5.2 (12.6)	0.395	8.1 (7.0)	0.633	9.2 (5.6)	0.171
MMP-9 (pg/μL)	6.8 (32.0)	0.290	13.1 (34.1)	0.633	15.6 (22.5)	0.493
Citocinas (pg/μL)						
IL-18	7.7 (10.2)	0.191	12.0 (14.9)	0.950	13.4 (17.9)	0.237
IL-1β	1.0 (1.4)	0.519	0.5 (0.8)	0.442	0.6 (2.0)	0.819
TNFα	ND		ND		ND	
IL-4	0.4 (0.5)	0.096	0.7 (1.6)	0.064	0.3 (0.5)	0.917
IL-6	0 (0.3)	0.439	0 (0.1)	0.044	0.1 (0.1)	0.180
IL-10	0 (0.1)	0.373	0 (0.0)	0.109	0 (0.1)	0.400
IL-12p70	ND		ND		ND	
INFγ	0.1 (0.2)	0.117	0.1 (0.2)	0.601	0.1 (0.3)	0.383

Os dados são apresentados em quantidade total e concentração através em mediana e variação interquartil (teste de Mann-Whitney U). p1 significância da diferença entre os grupos DC e GC, p2 significância da diferença entre os grupos RCUI e GC, p3 significância da diferença entre os grupos DC e RCUI.

pg picograma, mAbs miliabsorção, μL microlitro, ND não detectado.

4.3 Comparação entre sítios com gengivite e com periodontite

No grupo DC, a atividade da elastase ($p=0.006$) e a quantidade total das citocinas IL-1 β ($p=0.047$), IL-6 ($p=0.028$) e INF γ ($p=0.033$) foram significativamente maiores nos sítios com periodontite do que nos sítios com gengivite. No grupo RCUI, a quantidade total das citocinas IL-1 β ($p=0.015$), IL-4 ($p=0.016$) e INF γ ($p=0.009$) foram significativamente maiores nos sítios com periodontite do que nos sítios com gengivite. No grupo GC, a quantidade total da IL-4 ($p=0.022$) e do INF γ ($p=0.012$) foram significativamente maiores nos sítios com periodontite do que nos sítios com gengivite. Nos grupos DC ($p=0.005$) e GC ($p=0.008$), a quantidade total da IL-18 foi significativamente maior nos sítios com gengivite do que nos sítios com periodontite. No grupo RCUI, essa mesma tendência foi observada ($p=0.099$) (Tabela 5, página 40).

Com relação à concentração, no grupo DC, a atividade da elastase ($p=0.027$) foi significativamente maior nos sítios com periodontite do que nos sítios com gengivite. No grupo RCUI, a concentração da IL-1 β ($p=0.02$) e do INF γ ($p=0.026$) foram significativamente maiores nos sítios com periodontite do que nos sítios com gengivite. Nos grupos DC ($p=0.001$), RCUI ($p=0.001$) e GC ($p=0.008$) a concentração da IL-18 foi significativamente maior nos sítios com gengivite do que nos sítios com periodontite. No grupo RCUI, a atividade da elastase foi significativamente maior nos sítios com gengivite do que nos sítios com periodontite ($p=0.009$) (Tabela 6, página 41).

Tabela 5 - Comparação da quantidade dos mediadores inflamatórios no fluido gengival dos sítios com gengivite e periodontite em pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

	<i>DC</i> <i>Gengivite</i> (n= 15)	<i>p1</i>	<i>DC</i> <i>Periodontite</i> (n= 15)	<i>RCUI</i> <i>Gengivite</i> (n= 15)	<i>p2</i>	<i>RCUI</i> <i>Periodontite</i> (n= 15)	<i>GC</i> <i>Gengivite</i> (n= 15)	<i>p3</i>	<i>GC</i> <i>Periodontite</i> (n= 15)
Elastase	0.3 (0.1)	0.006	0.3 (0.1)	0.2 (0.2)	0.099	0.3 (0.2)	0.2 (0.1)	0.14	0.3 (0.1)
IL-18	37.9 (11.7)	0.005	31.1(21.5)	43.9 (23.4)	0.088	35.3 (22.2)	48.7 (42.8)	0.008	28.4 (32.4)
IL-1 β	0.4 (1.3)	0.047	2.5 (3.4)	0.7 (1.3)	0.015	2.0 (5.6)	1.2 (2.0)	0.211	1.3 (1.6)
TNF α	ND		ND	ND		ND	ND		ND
IL-4	0.7 (1.5)	0.331	0.9 (1.0)	0 (0.8)	0.016	1.0 (1.7)	1.2 (2.1)	0.022	1.9 (2.6)
IL-6	0 (0.0)	0.028	0 (0.9)	0 (0.7)	0.071	0.3 (0.6)	0 (0.0)	0.866	0 (0.3)
IL-10	ND		0 (0.2)	ND		0 (0.2)	ND		0 (0.0)
IL-12p70	ND		ND	ND		ND	ND		ND
INF γ	0 (0.2)	0.033	0.1 (0.5)	0 (0.2)	0.009	0.2 (0.5)	0 (0.0)	0.012	0.3 (0.5)

Os dados são apresentados em mediana e variação interquartil (teste de Wilcoxon). Os valores da elastase são apresentados em miliabsorção (mAbs) e o valores da citocinas em picogramas (pg). p1 significância da diferença entre sítios gengivite e periodontite no grupo DC, p2 significância da diferença entre sítios gengivite e periodontite no grupo RCUI, p3 significância da diferença entre sítios gengivite e periodontite no grupo GC. ND não detectado.

Tabela 6 - Comparação da concentração dos mediadores inflamatórios no fluido gengival dos sítios com gengivite e periodontite em pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

	<i>DC Gengivite (n= 15)</i>	<i>p1</i>	<i>DC Periodontite (n= 15)</i>	<i>RCUI Gengivite (n= 15)</i>	<i>p2</i>	<i>RCUI Periodontite (n= 15)</i>	<i>GC Gengivite (n= 15)</i>	<i>p3</i>	<i>GC Periodontite (n= 15)</i>
Elastase	0.1 (0.1)	0.027	0.1 (0.1)	0.2 (0.3)	0.009	0.1 (0.2)	0.1 (0.1)	0.394	0.1 (0.1)
IL-18	24.0 (28.6)	0.001	7.7 (10.2)	38.5 (65.5)	0.001	13.4 (17.9)	29.6 (31.3)	0.008	12.0 (14.9)
IL-1 β	0.2 (0.9)	0.460	1.0 (1.4)	0.2 (0.6)	0.02	0.6 (2.0)	0.6 (0.9)	0.910	0.5 (0.8)
TNF α	ND		ND	ND		ND	ND		ND
IL-4	0.2 (1.0)	0.778	0.4 (0.5)	0 (0.5)	0.158	0.3 (0.5)	0.9 (1.7)	0.433	0.7 (1.6)
IL-6	0 (0.0)	0.063	0 (0.3)	0 (0.2)	0.071	0.1 (0.1)	0 (0.0)	0.866	0 (0.1)
IL-10	ND		0 (0.1)	ND		0 (0.1)	ND		0 (0.0)
IL-12p70	ND		ND	ND		ND	ND		ND
INF γ	0 (0.1)	0.066	0.1 (0.2)	0 (0.1)	0.026	0.1 (0.3)	0 (0.2)	0.422	0.1 (0.2)

Os dados são apresentados em mediana e variação interquartil (teste de Wilcoxon). Os valores da elastase são apresentados em miliabsorção por microlitro (mAbs/ μ L) e o valores da citocinas em picogramas por microlitro (pg/ μ L). p1 significância da diferença entre sítios gengivite e periodontite no grupo DC, p2 significância da diferença entre sítios gengivite e periodontite no grupo RCUI, p3 significância da diferença entre sítios gengivite e periodontite no grupo GC. ND não detectado.

4.4 Análise do soro

Os níveis da IL-18 foram significativamente mais altos nos grupos DC ($p=0.011$) e RCUI ($p=0.019$) do que no grupo GC. No grupo DC, os níveis de $TNF\alpha$ foram mais altos do que no grupo RCUI ($p=0.08$). As outras citocinas analisadas não diferiram entre os grupos (Tabela 7, a seguir).

Tabela 7 - Valores séricos das citocinas nos pacientes com doença de Crohn (DC), retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) e controles (GC).

<i>Citocinas</i>	<i>DC</i> (<i>n= 14</i>)	<i>p</i> ¹	<i>GC</i> (<i>n= 15</i>)	<i>p</i> ²	<i>RCUI</i> (<i>n= 15</i>)	<i>p</i> ³
Pró-inflamatórias						
IL-18	156.0 (89.1)	0.011	107.1 (73.2)	0.019	159.5 (107.1)	0.827
IL-1 β	0 (0.0)	0.535	0 (0.0)	0.550	0 (0.0)	1.000
$TNF\alpha$	4.3 (2.7)	0.631	4.6 (4.7)	0.064	3.3 (2.3)	0.080
Th1						
IL-12p70	0 (0.0)	0.154	0 (3.3)	0.484	0 (0.0)	0.382
$INF\gamma$	0 (0.0)	0.749	0 (0.4)	0.141	0 (0.0)	0.244
Th2						
IL-4	0 (1.6)	0.769	0 (10.6)	0.548	0 (10.7)	0.625
IL-6	3.2 (4.1)	0.965	2.8 (20.6)	0.755	3.8 (4.4)	0.759
IL-10	1.2 (3.0)	0.153	4.6 (20.9)	0.916	4.3 (28.5)	0.159

Os dados são apresentados em mediana e variação interquartil (teste de Mann-Whitney U). Os dados são apresentados em picogramas por mililitro (pg/mL). p_1 significância da diferença entre os grupos DC e GC, p_2 significância da diferença entre os grupos RCUI e GC, p_3 significância da diferença entre os grupos DC e RCUI.

4.5 Correlação do soro com o fluido gengival

No grupo RCUI a IL-18 do soro se correlacionou positivamente com a IL-1 fluido gengival ($r=0.667$, $p=0.01$). Nos grupos DC e GC, não houve correlações.

5 DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstraram que os níveis da citocina IL-4 estavam significativamente mais baixos no fluido gengival dos sítios com periodontite nos pacientes com DII. Dennison e Van Dyke³² sugeriram que baixos níveis de IL-4 são responsáveis pela destruição periodontal. Sabe-se que a IL-4 diminui a expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 β , TNF α , INF γ e IL-6¹⁰¹⁻¹⁰². Conseqüentemente, quando a IL-4 está em níveis baixos, há o favorecimento de uma resposta local mais destrutiva. Corroborando essa hipótese, baixos níveis da IL-4 foram demonstrados no fluido gengival em pacientes com periodontite em estágio terminal da doença⁵². Concentrações mais baixas da IL-4 também foram demonstradas no fluido gengival de pacientes com artrite reumatóide e indivíduos sistemicamente saudáveis que possuíam periodontite crônica¹⁰³. No presente estudo, os achados clínicos não mostraram diferença na perda de inserção, mas isso pode ser devido ao pequeno número de pacientes. Num estudo prévio realizado pelo nosso grupo, com um número maior de pacientes, demonstramos que pacientes com RCUI e DC apresentavam maior perda de inserção do que os controles sistemicamente saudáveis¹⁶. Esse dado nos permite especular que numa amostra maior, quando comparados a indivíduos saudáveis, níveis mais baixos da IL-4 em pacientes com DII podem estar relacionados a uma maior destruição periodontal.

Os indivíduos com RCUI possuíam níveis significativamente mais altos de IL-6 nos sítios com periodontite quando comparados com os do grupo GC. A IL-6 é uma potente estimuladora da diferenciação de osteoclastos e induz a reabsorção óssea¹⁰⁴. Estudos no fluido gengival mostram que na periodontite os níveis da IL-6 são maiores do que em sítios saudáveis^{43,54}, e se correlacionam com a severidade da periodontite⁵⁵. Então, paralelamente à menor quantidade de IL-4, o nível mais alto de IL-6 no fluido gengival pode ser a causa da maior destruição periodontal nos indivíduos com RCUI do que nos indivíduos com DC encontrada previamente¹⁶.

Nos três grupos estudados, a concentração da IL-18 foi significativamente maior nos sítios com gengivite do que nos sítios com periodontite. Foi demonstrado que em pacientes sistemicamente saudáveis, a concentração da IL-18 aumentam com a destruição tecidual, isto é, maior quantidade de IL-18 foi encontrada no fluido gengival de pacientes com periodontite do que nos pacientes apenas com gengivite⁴⁵⁻⁴⁶. Uma limitação do nosso estudo é que não avaliamos indivíduos com apenas gengivite. Como esse estudo é transversal, não podemos

afirmar que os sítios com gengivite estavam iniciando o processo de destruição tecidual, mas esses resultados reforçam a importância do acompanhamento desses pacientes através da terapia periodontal de suporte.

Nossos resultados indicam prováveis causas da maior suscetibilidade à periodontite demonstrada previamente em pacientes com DII, porém não demonstram um padrão de resposta Th1 ou Th2 no fluido gengival. A citocina IL-12, uma importante citocina Th1, não foi detectada no fluido gengival. Os 3 estudos que avaliaram a IL-12 no fluido gengival^{37,46,48} realizaram a coleta através de pontas de papel absorvente e demonstraram que a quantidade de IL-12 detectada é muito baixa. Talvez estudos sobre a IL-12 no fluido gengival através da técnica de lavagem e aspiração possam esclarecer se a IL-12 é realmente pouco encontrada no fluido ou se a quantidade detectada varia em decorrência da técnica utilizada. Por outro lado, consideramos o achado dos níveis mais altos da IL-6 nos sítios com periodontite de pacientes com RCUI insuficiente para concluir que houve uma resposta Th2 nesse grupo. Para haver um indício de ativação das células Th2, acreditamos que os níveis da IL-4, a principal indutora da resposta Th2, também deveriam estar aumentados.

Coletamos o fluido com pontas de papel absorvente pois é uma técnica rápida, fácil e permite a quantificação do volume. A técnica da lavagem e aspiração não permite a quantificação do volume, pois nem todo o fluido pode ser recuperado durante o procedimento de aspiração¹⁰⁵. Os constituintes encontrados no fluido gengival podem ser apresentados em quantidade absoluta, em concentração ou através de ambas as formas se a profundidade da bolsa e o tempo de coleta forem informados. Como há controvérsias sobre a melhor forma de apresentação dos dados, é recomendado que os dados sejam apresentados tanto em quantidade total como em concentração¹⁰⁵. Comparando nossos dados obtidos através da quantidade absoluta e concentração, quando houve diferença significativa na apresentação dos dados através da quantidade total, permanecia uma tendência quando os dados eram apresentados na forma de concentração (Tabelas 3 e 4). Esse fato ratifica nossos achados. A única exceção foi em relação à diferença da IL-18 entre os grupos DC e GC que desapareceu quando os dados foram apresentados através da concentração.

O maior número de indivíduos ex-fumantes no grupo RCUI está de acordo com a literatura, já que a RCUI afeta predominantemente não-fumantes e ex-fumantes. O hábito de fumar é um importante fator ambiental na DII, determinante do fenótipo da doença e causador de efeitos diferentes na DC e na RCUI. O risco de ocorrência da DC é maior em fumantes enquanto que na RCUI o hábito de fumar diminui o risco de ocorrência da doença. Entretanto, como o hábito de fumar está associado a vários outros efeitos prejudiciais à saúde, há um

consenso entre os gastroenterologistas em incentivar os pacientes com DC e RCUI a parar de fumar¹⁰⁶⁻¹⁰⁷. Na periodontite, o hábito de fumar é um fator de risco, mas os mecanismos biológicos que causam os efeitos prejudiciais do fumo no periodonto ainda não foram esclarecidos¹⁰⁸. Foi demonstrado que os níveis do TNF α estavam significativamente mais altos no fluido gengival de pacientes com periodontite fumantes do que em não-fumantes, mas os níveis de IL-6 e IL-1 β não foram afetados pelo hábito de fumar¹⁰⁹⁻¹¹¹. Nesse estudo, acreditamos que o número significativamente maior de ex-fumantes no grupo RCUI do que no grupo GC não interferiu nas análises, pois reflete um hábito passado que não influencia a expressão dos mediadores inflamatórios no fluido gengival no momento da análise. O pequeno número de fumantes também não influenciou os resultados e, por esse motivo, foram mantidos em nosso estudo. Devido ao importante papel do hábito de fumar nessas duas doenças, parece interessante explorarmos esse tema através de uma avaliação futura dos marcadores no fluido gengival de pacientes com DII fumantes e não-fumantes.

No soro, a IL-18 foi a única citocina que estava em níveis significativamente mais elevados em pacientes com DII do que nos indivíduos do grupo GC. Esse resultado está de acordo com estudos que avaliaram essa citocina em pacientes com DC^{89-91,112-113} e com o estudo que mostrou uma tendência a maior quantidade de IL-18 no soro de pacientes com RCUI¹¹⁴, quando comparados a controles saudáveis. Dependendo do contexto imunológico, a IL-18 tem a capacidade de induzir a diferenciação tanto Th1 quanto Th2. A IL-18 na presença da IL-12 induz a produção de IFN- γ em células NK e células T e, conseqüentemente, o desenvolvimento de uma resposta Th1. Na ausência da IL-12, a IL-18 induz a produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13¹¹⁵. Como a IL-12p70 foi pouco detectada no soro dos pacientes com DII e não houve diferenças nos níveis das citocinas Th2 entre os grupos, nossos resultados também não demonstraram um padrão de resposta Th1 ou Th2 no soro. Entre os grupos DC e RCUI, a única diferença encontrada no soro foi uma tendência a níveis mais elevados do TNF α em pacientes com DC quando comparados aos pacientes com RCUI. Esse achado está de acordo com os estudos que demonstram um papel central do TNF α na DC^{79,116-117}.

Há duas possíveis explicações para a ausência de diferença na expressão de citocinas no soro em relação ao grupo controle. A primeira explicação pode ser a atividade de doença. Em nosso estudo, apenas 5 pacientes com DC e 3 pacientes com RCUI estavam em atividade de doença. Uma maior produção de citocinas por células da mucosa intestinal⁸⁷ assim como detecções de níveis mais altos de citocinas na circulação são encontradas quando os pacientes estão em atividade de doença¹¹⁸. Em nosso estudo, análises comparativas entre indivíduos

com doença em atividade e doença em remissão não puderam ser realizadas em virtude da desproporcionalidade existente. Parece interessante aumentarmos o número de pacientes com DII em atividade a fim de igualarmos ao número de indivíduos com doença em remissão para que essa questão possa ser estudada.

A segunda provável explicação é a medicação. O tratamento da DII é individualizado e depende, entre outros fatores, do grau da atividade e da localização da doença. No grupo DC, 6 indivíduos faziam uso de imunomoduladores e, no grupo RCUI, 8 indivíduos estavam usando aminosalicilatos. Esses dados estão de acordo com a terapia de manutenção da remissão de cada uma dessas doenças, já que na DC o agente de manutenção de primeira escolha é a azatioprina ou a 6 mercaptopurina e na RCUI são os compostos derivados do ácido 5-aminosalicilato⁷. Nossos pacientes foram selecionados tendo como base a condição periodontal sem levar em consideração as variações individuais referentes à DII. Futuramente, uma distribuição mais uniforme da medicação utilizada talvez nos esclareça se há alguma atuação da medicação utilizada por esses pacientes no periodonto. Caso atuem, é possível que a taxa de progressão da periodontite seja mais lenta porque os medicamentos estariam controlando a resposta imune do hospedeiro que é exacerbada na periodontite, ou, por outro lado, a progressão talvez seja mais rápida porque a resposta imune está diminuída e o hospedeiro não consegue combater a agressão da placa microbiana.

Através da avaliação da atividade da elastase e da mensuração dos níveis das MMP-8 e MMP-9, avaliamos a liberação dos grânulos primários, secundários e terciários dos neutrófilos, respectivamente. Inicialmente, analisamos a atividade da elastase e observamos que não havia diferenças entre os grupos. Então, decidimos avaliar o grau de destruição tecidual nos sítios com periodontite através da mensuração dos níveis das MMP-8 e MMP-9 que são as principais collagenases nas lesões periodontais^{36,57}. Da mesma forma, não houve diferença entre os grupos em relação aos níveis das MMPs. O presente trabalho nos leva a concluir que havia viabilidade celular e função dos três grânulos, entretanto, não havia uma função aumentada dos neutrófilos nos pacientes com DII.

Apenas no grupo RCUI foi detectada uma correlação entre uma citocina no soro, a IL-18, e uma citocina no fluido gengival, a IL-1 β . A IL-18 e a IL-1 β são citocinas pró-inflamatórias, estruturalmente homólogas, pertencentes à família da IL-1^{98,119}. A IL-18 ativa macrófagos, neutrófilos, células endoteliais, condrócitos, osteoclastos e queratinócitos. A IL-18 possui a capacidade de induzir TNF α e IL-1 β em células mononucleares. Além disso, a IL-18 é capaz de iniciar uma cascata de citocinas com a concomitante expressão de marcadores pró-inflamatórios como, por exemplo, óxido nítrico, moléculas de adesão e

MMP-9⁹⁸. Na periodontite, a IL-1 β exerce um papel importante como mediadora da destruição tecidual local^{38-39,41}. Esse resultado indica que pode haver uma relativa correlação entre a resposta plasmática e a tecidual. Além disso, pode ser mais uma provável explicação para a maior destruição periodontal encontrada nos pacientes com RCUI, quando comparados aos pacientes com DC e aos pacientes saudáveis, no estudo prévio realizado pelo nosso grupo¹⁶.

6 CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo demonstraram que:

- a) nos pacientes com doença inflamatória intestinal, a quantidade total da IL-4 estava mais baixos no fluido gengival dos sítios com periodontite e os níveis da IL-18 estavam aumentados no soro;
- b) a função dos neutrófilos foi similar entre os pacientes com doença inflamatória intestinal e os indivíduos saudáveis;
- c) com exceção da correlação positiva entre a IL-18 sérica e a IL-1 β no fluido gengival dos pacientes com retocolite ulcerativa idiopática, não houve correlação entre as diversas citocinas avaliadas no soro e as citocinas no fluido gengival nos pacientes saudáveis nem nos pacientes com doença inflamatória intestinal;
- d) não houve caracterização de um padrão de resposta Th1 ou Th2 no fluido gengival dos pacientes com doença inflamatória intestinal.

REFERÊNCIAS

1. Kinane DF, Mark Bartold P. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2007;43:278-93.
2. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:521-33.
3. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004;126:1504-17.
4. Zaltman C. Doença Inflamatória Intestinal: Qual a relevância da doença no Brasil? *Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro*. 2007;23: 992-3.
5. Bernklev T, Jahnsen J, Henriksen M, Lygren I, Aadland E, Sauar J, et al. Relationship between sick leave, unemployment, disability, and health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12:402-12.
6. MacDonald TT, Monteleone G, Pender SL. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol*. 2000;51:2-9.
7. Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*. 2007;369:1641-57.
8. Ghandour K, Issa M. Oral Crohn's disease with late intestinal manifestations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991;72:565-7.
9. Williams AJ, Wray D, Ferguson A. The clinical entity of orofacial Crohn's disease. *Q J Med*. 1991;79:451-8.
10. Greenstein AJ, Janowitz HD, Sachar DB. The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine (Baltimore)*. 1976;55:401-12.
11. Schütz T, Drude C, Paulisch E, Lange KP, Lochs H. Sugar intake, taste changes and dental health in Crohn's disease. *Dig Dis*. 2003;21:252-7.

12. Sundh B, Emilson CG. Salivary and microbial conditions and dental health in patients with Crohn's disease: a 3-year study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1989;67:286-90.
13. Bevenius J. Caries risk in patients with Crohn's disease: a pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988;65:304-7.
14. Grössner-Schreiber B, Fetter T, Hedderich J, Kocher T, Schreiber S, Jepsen S. Prevalence of dental caries and periodontal disease in patients with inflammatory bowel disease: a case-control study. *J Clin Periodontol.* 2006 Jul;33:478-84.
15. Flemmig TF, Shanahan F, Miyasaki KT. Prevalence and severity of periodontal disease in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Periodontol.* 1991;18:690-7.
16. Brito F, de Barros FC, Zaltman C, Carvalho AT, Carneiro AJ, Fischer RG, et al. Prevalence of periodontitis and DMFT index in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Clin Periodontol.* 2008;35:555-60.
17. Singh VK, Mehrotra S, Agarwal SS. The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy. *Immunol Res.* 1999;20:147-61.
18. Yamazaki K, Yoshie H, Seymour GJ. T cell regulation of the immune response to infection in periodontal diseases. *Histol Histopathol.* 2003;18:889-96.
19. Torres MI, Rios A. Current view of the immunopathogenesis in inflammatory bowel disease and its implications for therapy. *World J Gastroenterol.* 2008;14:1972-80
20. Figueredo CM, Ribeiro MS, Fischer RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1beta concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J Periodontol.* 1999;70:1457-63.
21. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol.* 1996;1:1-36.
22. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 1997;14:112-43.
23. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2004;35:158-82.

24. Paul WE. The immune system: an introduction. In: Paul WE. *Fundamental Immunology*. 5^a ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p.1-22.
25. De Jager W, Rijkers GT. Solid-phase and bead-based cytokine immunoassay: a comparison. *Methods*. 2006;38:294-303.
26. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989;7:145-73.
27. Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:227-57.
28. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev*. 2003;8:223-46.
29. Leonard WJ. Type I cytokines and interferons and their receptors. Filadelfia. EUA. Lippincott Williams & Wilkins. Separata de: William E. Paul. *Fundamental Immunology*. 2003. p.701-47.
30. Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcott J, Taubman MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *J Periodontal Res*. 1993;28:478-86.
31. Ebersole JL, Taubman MA. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 1994;5:112-41.
32. Dennison DK, Van Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*. 1997;14:54-78.
33. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13:17-34.
34. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:87-107.
35. Pöllänen MT, Salonen JJ, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2000*. 2003;31:12-31.

36. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:77-104.
37. Yücel OO, Berker E, Gariboğlu S, Otlu H. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2008;35:365-70.
38. Faizuddin M, Bharathi SH, Rohini NV. Estimation of interleukin-1beta levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2003;38:111-4.
39. Rawlinson A, Dalati MH, Rahman S, Walsh TF, Fairclough AL. Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 2000;27:738-43.
40. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol*. 2000;71:1535-45.
41. Rasmussen L, Hänström L, Lerner UH. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2000;27:41-52.
42. Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon JC, et al. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol*. 2008;35:206-14.
43. Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol*. 1999;44:535-9.
44. Zhong Y, Slade GD, Beck JD, Offenbacher S. Gingival crevicular fluid interleukin-1beta, prostaglandin E2 and periodontal status in a community population. *J Clin Periodontol*. 2007;34:285-93.
45. Figueredo CM, Rescala B, Teles RP, Teles FP, Fischer RG, Haffajee AD, et al. Increased interleukin-18 in gingival crevicular fluid from periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*. 2008a;23:173-176.

46. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2006;21:256-60.
47. Figueredo CM, Areas A, Sztajn bok FR, Miceli V, Miranda LA, Fischer RG, et al. Higher elastase activity associated with lower IL-18 in GCF from juvenile systemic lupus patients. *Oral Health Prev Dent*. 2008b;6:75-8.
48. Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine*. 2005;31:34-40.
49. Ikezawa I, Tai H, Shimada Y, Komatsu Y, Galicia JC, Yoshie H. Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32:1047-54.
50. Rossomando EF, Kennedy JE, Hadjimichael J. Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol*. 1990;35:431-4.
51. Tsai CC, Ku CH, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Changes in gingival crevicular fluid interleukin-4 and interferon-gamma in patients with chronic periodontitis before and after periodontal initial therapy. *Kaohsiung J Med Sci*. 2007;23:1-7.
52. Salvi GE, Brown CE, Fujihashi K, Kiyono H, Smith FW, Beck JD, et al. Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. *J Periodontal Res*. 1998;33:212-25.
53. Kabashima H, Nagata K, Hashiguchi I, Toriya Y, Iijima T, Maki K, Maeda K. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-4 in gingival crevicular fluid of patients with inflammatory periodontal disease. *J Oral Pathol Med*. 1996;25:449-55.
54. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol*. 2003;30:145-53.
55. Lin SJ, Chen YL, Kuo MY, Li CL, Lu HK. Measurement of gp130 cytokines oncostatin M and IL-6 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. *Cytokine*. 2005;30:160-7.

56. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent.* 2004;32:511-20.
57. Chen HY, Cox SW, Eley BM, Mäntylä P, Rönkä H, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2000;27:366-9.
58. Golub LM, Lee HM, Greenwald RA, Ryan ME, Sorsa T, Salo T, Giannobile WV. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res.* 1997; 46: 310-9.
59. Eley BM, Cox SW. A 2-year longitudinal study of elastase in human gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol.* 1996;23:681-92.
60. Gustafsson A, Asman B, Bergström K. Elastase and lactoferrin in gingival crevicular fluid: possible indicators of a granulocyte-associated specific host response. *J Periodontal Res.* 1994;29:276-82.
61. Figueredo CM, Fischer RG, Gustafsson A. Aberrant neutrophil reactions in periodontitis. *J Periodontol.* 2005;76:951-5.
62. Wachtfogel YT, Kettner C, Hack CE, Nuijens JH, Reilly TM, Knabb RM, et al. Thrombin and human plasma kallikrein inhibition during simulated extracorporeal circulation block platelet and neutrophil activation. *Thromb Haemost.* 1998;80:686-91.
63. Forehand JR, Bomalski JS, Johnston RB Jr. Mechanisms of lipopolysaccharide priming for enhanced respiratory burst activity in human neutrophils. *Adv Exp Med Biol.* 1991;297:65-73.
64. Souza MH, Troncon LE, Rodrigues CM, Viana CF, Onofre PH, Monteiro RA, et al. Trends in the occurrence (1980-1999) and clinical features of Crohn's disease and ulcerative colitis in a university hospital in southeastern Brazil. *Arq Gastroenterol.* 2002;39:98-105.
65. Loftus EV Jr, Schoenfeld P, Sandborn WJ. The epidemiology and natural history of Crohn's disease in population-based patient cohorts from North America: a systematic review. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:51-60.

66. Wagtmans MJ, Verspaget HW, Lamers CB, van Hogezaand RA. Gender-related differences in the clinical course of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:1541-6.
67. Ananthakrishnan AN, Weber LR, Knox JF, Skaros S, Emmons J, Lundeen S, et al. Permanent work disability in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:154-61.
68. Boonen A, Dagnelie PC, Feleus A, Hesselink MA, Muris JW, Stockbrügger RW, et al. The impact of inflammatory bowel disease on labor force participation: results of a population sampled case-control study. *Inflamm Bowel Dis*. 2002;8:382-9.
69. Crohn's & Colitis Foundation of America. Crohn's & Colitis Foundation of America [homepage na internet]. New York, c2008. [atualizada em 30 Feb 2008; acesso em 25 Mar 2008]. <http://www.ccfa.org>.
70. Dupuy A, Cosnes J, Revuz J, Delchier JC, Gendre JP, Cosnes A. Oral Crohn disease: clinical characteristics and long-term follow-up of 9 cases. *Arch Dermatol*. 1999;135:439-42.
71. Lisciandrano D, Ranzi T, Carrassi A, Sardella A, Campanini MC, Velio P, et al. Prevalence of oral lesions in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 1996;91:7-10.
72. Basu MK. Oral manifestations of Crohn's disease: studies in the pathogenesis. *Proc R Soc Med*. 1976;69:765-6.
73. Hanauer SB, Sandborn W. Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:635-43.
74. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern F Jr. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976;70:439-44.
75. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J*. 1955;2:1041-8.
76. Pallone F, Monteleone G. Mechanisms of tissue damage in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2001;17:307-12.

77. Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. Rio de Janeiro. 2008. Separata de: Galvão-Alves J. Temas de atualização em gastroenterologia. 2008. p. 29-44.
78. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*. 1998;115:182-205.
79. Van Deventer SJ. Review article: targeting TNF alpha as a key cytokine in the inflammatory processes of Crohn's disease-the mechanisms of action of infliximab. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999;13 Suppl 4:3-8.
80. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: immunodiagnostics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology*. 2001;120:622-35.
81. Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:458-66.
82. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet*. 2007;369:1627-40.
83. McCormack G, Moriarty D, O'Donoghue DP, McCormick PA, Sheahan K, Baird AW. Tissue cytokine and chemokine expression in inflammatory bowel disease. *Inflamm Res*. 2001;50:491-5.
84. Gotteland M, Lopez M, Muñoz C, Saez R, Altshiller H, Llorens P, et al. Local and systemic liberation of proinflammatory cytokines in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 1999;44:830-5.
85. Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, de la Motte C, Strong SA, et al. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol*. 1996;157:1261-70.
86. Reinecker HC, Steffen M, Witthoef T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott RP, et al. Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1 beta by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol*. 1993;94:174-81.

87. García de Tena J, Manzano L, Leal JC, San Antonio E, Sualdea V, Alvarez-Mon M. Distinctive pattern of cytokine production and adhesion molecule expression in peripheral blood memory CD4⁺ T cells from patients with active Crohn's disease. *Clin Immunol.* 2006;26:233-42.
88. Kader HA, Tchernev VT, Satyaraj E, Lejnine S, Kotler G, Kingsmore SF, et al. Protein microarray analysis of disease activity in pediatric inflammatory bowel disease demonstrates elevated serum PLGF, IL-7, TGF-beta1, and IL-12p40 levels in Crohn's disease and ulcerative colitis patients in remission versus active disease. *Am J Gastroenterol.* 2005;100:414-23.
89. Ludwiczek O, Kaser A, Novick D, Dinarello CA, Rubinstein M, Tilg H. Elevated systemic levels of free interleukin-18 (IL-18) in patients with Crohn's disease. *Eur Cytokine Netw.* 2005;16:27-33
90. Furuya D, Yagihashi A, Komatsu M, Masashi N, Tsuji N, Kobayashi D, et al. Serum interleukin-18 concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *J Immunother.* 2002; 25 Suppl 1:S65-67.
91. Kanai T, Watanabe M, Okazawa A, Nakamaru K, Okamoto M, Naganuma M, et al. Interleukin 18 is a potent proliferative factor for intestinal mucosal lymphocytes in Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2000; 119:1514-23.
92. Brown SJ, Mayer L. The immune response in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2007;102:2058-69.
93. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2002;347:417-29.
94. Cosnes J, Cattan S, Blain A, Beaugerie L, Carbonnel F, Parc R, Gendre JP. Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2002;8:244-50.
95. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1990;99:956-63.
96. Korzenik JR, Podolsky DK. Evolving knowledge and therapy of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5:197-209.
97. Moldawer LL. The tumor necrosis factor superfamily and its receptor. Philadelphia. EUA. Lippincott Williams & Wilkins. Separata de: William E. Paul. *Fundamental Immunology.* 2003. p.749-73

98. Dinarello CA. Interleukin-1 family of ligands and receptors. Philadelphia, EUA. Lippincott Williams & Wilkins. Separata de: William E. Paul. *Fundamental Immunology*. 2003. p.775-99.
99. Lash GE, Scaife PJ, Innes BA, Otun HA, Robson SC, Searle RF, et al. Comparison of three multiplex cytokine analysis systems: Luminex, SearchLight and FAST Quant. *J Immunol Methods*. 2006;309:205-8.
100. Ray CA, Bowsher RR, Smith WC, Devanarayan V, Willey MB, Brandt JT, et al. Development, validation, and implementation of a multiplex immunoassay for the simultaneous determination of five cytokines in human serum. *J Pharm Biomed Anal*. 2005; 36:1037-44.
101. Lee JD, Rhoades K, Economou JS. Interleukin-4 inhibits the expression of tumour necrosis factors alpha and beta, interleukins-1 beta and -6 and interferon-gamma. *Immunol Cell Biol*. 1995;73:57-61.
102. Te Velde AA, Huijbens RJ, Heije K, de Vries JE, Figdor CG. Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor alpha, and IL-6 by human monocytes. *Blood*. 1990;76:1392-7.
103. Bozkurt FY, Yetkin Ay Z, Berker E, Tepe E, Akkuş S. Anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: a preliminary report. *Cytokine*. 2006;35:180-5.
104. Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, Akatsu T, Abe E, Nakamura Y, et al. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol*. 1990 Nov;145:3297-303.
105. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:32-42.
106. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol*. 2007;13:6134-9.
107. Johnson GJ, Cosnes J, Mansfield JC. Review article: smoking cessation as primary therapy to modify the course of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;21:921-31.

108. Heasman L, Stacey F, Preshaw PM, McCracken GI, Hepburn S, Heasman PA. The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence. *J Clin Periodontol.* 2006;33:241-53.
109. Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and GCF levels of IL-1beta and IL-1ra in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2000;27:250-5.
110. Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and cervicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1999;26:352-7.
111. Boström L, Linder LE, Bergström J. Clinical expression of TNF-alpha in smoking-associated periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1998;25:767-73.
112. Pizarro TT, Michie MH, Bentz M, Woraratanadharm J, Smith MF Jr, Foley E, et al. IL-18, a novel immunoregulatory cytokine, is up-regulated in Crohn's disease: expression and localization in intestinal mucosal cells. *J Immunol.* 1999;162:6829-35.
113. Monteleone G, Trapasso F, Parrello T, Biancone L, Stella A, Iuliano R, et al. Bioactive IL-18 expression is up-regulated in Crohn's disease. *J Immunol.* 1999;163:143-7.
114. Wiercinska-Drapalo A, Flisiak R, Jaroszewicz J, Prokopowicz D. Plasma interleukin-18 reflects severity of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2005; 11:605-608.
115. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001;12:53-72.
116. Orlando A, Colombo E, Kohn A, Biancone L, Rizzello F, Viscido A, et al. Infliximab in the treatment of Crohn's disease: predictors of response in an Italian multicentric open study. *Dig Liver Dis.* 2005;37:577-83.
117. Reimund JM, Wittersheim C, Dumont S, Muller CD, Kenney JS, Baumann R, et al. Increased production of tumour necrosis factor-alpha interleukin-1 beta, and interleukin-6 by morphologically normal intestinal biopsies from patients with Crohn's disease. *Gut.* 1996; 39:684-9.
118. Murch SH, Lamkin VA, Savage MO, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut.* 1991;32:913-7.

119. Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol 2000*. 2004;35:42-52.
120. Brito F, Pedreira RR, Fischer RG, Figueredo CMS. Inter-relação entre a doença periodontal e a doença de Crohn. *R Ci méd biol* 2006; 5(3):261-67.

APÊNDICE A – Artigo: Prevalence of periodontitis and DMFT index in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis¹⁶.

J Clin Periodontol 2008; 35: 555–560 doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01231.x

Journal of
Clinical
Periodontology

Prevalence of periodontitis and DMFT index in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis

Fernanda Brito¹, Fabiana Cervo de Barros¹, Cyrla Zaltman³, Ana Teresa Pugas Carvalho⁴, Antonio Jose de Vasconcellos Carneiro³, Ricardo Guimarães Fischer¹, Anders Gustafsson² and Carlos Marcelo de Silva Figueredo^{1,2}

¹Department of Periodontology, Faculty of Odontology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil; ²Division of Periodontology, Institute of Odontology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; Departments of Gastroenterology, Faculty of Medicine; ³Federal University of Rio de Janeiro; ⁴Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

Brito F, de Barros FC, Zaltman C, Carvalho ATP, Carneiro AJV, Fischer RG, Gustafsson A, Figueredo CMS. Prevalence of periodontitis and DMFT index in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 555–560. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01231.x.

Abstract

Aim: To compare the prevalence of periodontal disease and the decayed, missing and filled teeth (DMFT) index in patients with Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) with those without these diseases.

Material and Methods: Ninety-nine CD (39.0 SD ± 12.9 years), 80 UC (43.3 SD ± 13.2) and 74 healthy controls (40.3 SD ± 12.9) were compared for DMFT index and presence of periodontitis. Probing pocket depth (PPD), clinical attachment loss (CAL), bleeding on probing (BOP), plaque and DMFT index were measured on all subjects. The presence of periodontitis was defined as having CAL ≥ 3 mm in at least four sites in different teeth.

Results: Significantly more patients with UC (90.0%; $p < 0.001$) and CD (81.8%; $p = 0.03$) had periodontitis than controls (67.6%). Among smokers, UC patients had significantly more periodontitis. CD had a greater mean DMFT score (18.7 versus 13.9; $p = 0.031$) compared with controls and UC had greater median PPD (2.2 versus 1.7 mm; $p < 0.0001$) than controls. Among non-smokers, CD (2.4 mm; $p < 0.0001$) and UC showed deeper pockets (2.3 mm; $p < 0.0001$) compared with controls (1.5 mm). UC had a greater mean DMFT score (15.3 versus 12.1; $p = 0.037$) compared with controls.

Conclusions: CD and UC patients had higher DMFT and prevalence of periodontitis than controls, but smoking was an effect modifier.

Key words: attachment loss; Crohn's disease; DMFT; inflammatory bowel disease; oral lesions; periodontitis; ulcerative colitis

Accepted for publication 17 February 2008

Inflammatory bowel disease (IBD) encompasses two distinct chronic intestinal disorders: Crohn's disease (CD) and

ulcerative colitis (UC) (Podolsky 2002, Bouma & Strober 2003). The pathogenesis of IBD is still elusive as no agent or mechanism has explained all aspects of the disease. However, it is known that distinct immune abnormalities play a major role in the initiation and perpetuation of IBD (MacDonald et al. 2000).

Extra-intestinal manifestations in both forms of IBD can occur in the joints, eyes, skin, mouth and liver (Greenstein et al. 1976, Veloso et al. 1996, Jiang et al. 2006). Oral lesions may coincide, precede or follow the

onset of the intestinal symptoms (Greenstein et al. 1976, Ghandour & Issa 1991, Williams et al. 1991). The prevalence of oral manifestations in IBD varies between 0% and 9% in adults (Basu 1976, Greenstein et al. 1976, Lisciandrano et al. 1996, Dupuy et al. 1999).

A high prevalence of caries has been reported in CD patients (Bevenius 1988, Sundh & Emilson 1989, Schütz et al. 2003); in comparison, little or no information is known about the prevalence of dental caries in UC patients. To date,

Conflict of interest and sources of funding statement

The authors declare that there are no conflicts in this study. This study was supported in part by a grant from the Brazilian government: Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). Grant no. 3651061

only two cross-sectional studies have been performed examining the prevalence and severity of periodontitis in patients with IBD (Flemmig et al. 1991, Grössner-Schreiber et al. 2006). Flemmig et al. (1991) examined 46 CD patients and 61 UC patients. The periodontal examination was carried out at two sites (mid – and mesiobuccal) of all present teeth in two quadrants. They showed that periodontitis was more prevalent but not more severe in this population. However, there was no control group and the results were compared with the assessment of Oral Health of United States Adults. The study by Grössner-Schreiber et al. (2006) examined 62 patients with IBD and compared the results with 59 matched healthy controls, and the periodontal examination was performed in two quadrants. They found that patients with IBD had more sites of periodontitis with attachment loss of at least 4 and 5 mm although no significant differences were found between IBD patients and healthy controls. Furthermore, in this study no distinction was found between CD and UC patients.

Periodontitis and IBD are multifactorial diseases. It is known that both result from an aberrant immune response in a susceptible host that may also be influenced by environmental factors (MacDonald et al. 2000, Bouma & Strober 2003, Kinane & Mark Bartold 2007). Because the key mediators involved in tissue damage in both diseases are common, such as cytokines and matrix metalloproteinases (Pallone & Monteleone 2001, Kinane & Mark Bartold 2007), we hypothesized that patients with IBD could be more susceptible to periodontitis. However, as CD and UC have markedly different features (Bouma & Strober 2003), information is lost when they are combined as IBD and analysed as one disease; hence, they should be evaluated separately.

Therefore, the purpose of this study was to determine the prevalence of periodontitis and the DMFT index of CD and UC patients through a full-mouth examination and compare them with the findings from systemic healthy controls.

Material and Methods

Subjects

Ninety-nine CD patients and 80 UC patients participated in the study. The diagnosis of CD or UC had been

established previously by clinical, radiological, endoscopic and histological analyses. All these individuals were out-patients attending the inflammatory bowel disease clinics at Pedro Ernesto University Hospital of the Rio de Janeiro State University (HUPE-UERJ) and the Clementino Fraga Filho University Hospital of Federal University of Rio de Janeiro (CFFUH-UFRJ), both in Rio de Janeiro, Brazil.

Seventy-four age-matched systemically healthy individuals who worked at the University Hospitals comprised the control group. The participants of the control group did not show any clinical signs of ongoing systemic disease.

Edentulous individuals, patients requiring antibiotic prophylaxis before the periodontal examination and pregnant women were excluded from this study. Participants enrolled in this study also signed a written informed consent. When the patient was <18 years old, one of the parents or the guardians consented. The protocol was reviewed and approved by the Committee on Ethics and Research of the HUPE-UERJ and CFFUH-UFRJ. Eligible participants were recruited from January 2005 to 2006.

Clinical data

A questionnaire covering demographic data including age, sex, medical history, medication used and smoking habits was administered. The smoking habit was registered as current smokers (those who currently smoke cigarettes daily or occasionally), non-smokers (those who have never smoked cigarettes) and former smokers (those who have smoked cigarettes but who currently do not smoke) (Ojima et al. 2006). In the present study, occasionally refers to the subjects who said that they smoke only during the weekends. Current smokers were asked about cigarette consumption in terms of the number of cigarettes per day.

After the clinical examination, the medical records were reviewed in order to check the information obtained from the patients and to collect information concerning their disease activity. Crohn's Disease Activity Index (CDAI) (Best et al. 1976) was used to assess disease activity in CD patients, whereas Truelove and Witts' index (Truelove & Witts 1955) was used to assess disease activity in UC patients. A CDAI higher than 150 represents active disease in CD patients.

The presence of more than six episodes of bloody diarrhoea, fever, anaemia (haemoglobin <7.5 g/dl), cardiac frequency >90 b.p.m. and erythrocyte sedimentation rate (ESR) >30 mm per first hour was considered to indicate active disease in UC patients.

In the CD group, some patients were not taking any medication ($n = 9$), those who were used aminosalicylates ($n = 26$), immunomodulators ($n = 21$), aminosalicylates+immunomodulators ($n = 17$), aminosalicylates+corticosteroids ($n = 8$), immunomodulators+corticosteroids ($n = 9$) and aminosalicylates+immunomodulators+corticosteroids ($n = 9$). In the UC group, patients used aminosalicylates ($n = 52$), immunomodulators ($n = 4$), aminosalicylates+immunomodulators ($n = 9$), aminosalicylates+corticosteroids ($n = 9$), immunomodulators+corticosteroids ($n = 2$) and aminosalicylates+immunomodulators+corticosteroids ($n = 4$). In addition, seven CD and three UC patients were using anti-TNF α , four CD and one UC patients were using metronidazol and four CD patients were using ciprofloxacin in combination with the above medication.

Oral examination

The clinical examination was performed in all present teeth except for the third molars. The following periodontal parameters were measured at six sites (mesio-buccal, buccal, disto-buccal, mesio-lingual, lingual and disto-buccal) for each tooth: presence of plaque, presence of bleeding on probing (BOP), probing pocket depth (PPD) and clinical attachment loss (CAL). PPD (the distance from the gingival margin to the bottom of the pocket) and CAL (the distance from the cemento-enamel junction (JCE) to the bottom of the pocket/sulcus) were measured using a conventional periodontal probe (Hu-Friedy[®], Chigaco, IL, USA) -15. In the cases where the CEJ was not visible, for example, by a restoration, the position of CEJ was estimated by extrapolating the position of the CEJ from the adjacent teeth. Periodontitis was defined as the presence of at least four sites in different teeth with CAL ≥ 3 mm.

The teeth were examined for caries according to the DMFT index using the World Health Organization (WHO) criteria, and the intra-oral examination for assessment of mucosa lesions was also performed following WHO recommendations (WHO 1997).

Table 1. Demographic data of 99 CD patients, 80 UC patients and 74 healthy controls

	Crohn's disease (n = 99)	p1	Controls (n = 74)	p2	Ulcerative colitis (n = 80)	p3
Age	39.0 (12.9)	0.514 (<i>t</i> -test)	40.3 (12.9)	0.098 (<i>t</i> -test)	43.3 (13.2)	0.032 (<i>t</i> -test)
Male	31 (31.3%)	0.876	24 (32.4%)	0.259	33 (41.3%)	0.169
Female	68 (68.7%)	0.876	50 (67.6%)	0.259	47 (58.7%)	0.169
White	61 (61.6%)	0.001	27 (36.5%)	0.005	47 (58.7%)	0.697
Mixed	32 (32.3%)	0.100	33 (44.6%)	0.293	29 (36.2%)	0.582
Black	6 (6.0%)	0.009	14 (18.9%)	0.007	4 (5.0%)	0.759
Family history	12 (12.1%)		–		11 (13.7%)	0.746
Smokers	12 (12.1%)	0.993	9 (12.2%)	0.489	7 (8.7%)	0.467
Non-smokers	63 (63.6%)	0.043	57 (77.0%)	<i>p</i> <0.0001	38 (47.5%)	0.043
Former smokers	24 (24.3%)	0.017	8 (10.8%)	<i>p</i> <0.0001	35 (43.8%)	0.009
Time of diagnosis (months)	72 (96)		–		72 (84)	0.795
Hypertension	18 (18.2%)	<i>p</i> <0.0001	0	<i>p</i> <0.0001	17 (21.2%)	0.607
Diabetes	0		0	0.092	3 (3.7%)	0.052
Extra-intestinal manifestations	50 (50.5%)		–		42 (52.5%)	0.791
Active disease	22 (22.2%)		–		19 (23.7%)	0.809

p1: significance of the difference between Crohn's disease (CD) patients and controls, p2: significance of the difference between ulcerative colitis (UC) patients and controls and p3: significance of the difference between CD and UC patients. Test was χ^2 unless otherwise stated.

The number of subjects, and percentage for all the parameters except for age, the data is expressed as mean and standard deviation (SD). Time of diagnosis is expressed as median and quartile range.

Two periodontists involved in the examination achieved substantial inter-examiner reproducibility ($\kappa = 0.775$, $p < 0.001$) for all the variables analysed.

Statistical analysis

A post-hoc calculation showed that with a sample size of 253, across the three groups, a one-way analysis of variance would have 99% power to detect, at the 0.05 level, a difference in mean PPD.

Normally distributed data were displayed as mean and standard deviation whereas non-normally distributed data were displayed as median and quartile range. Differences in the frequency of subjects within groups were assessed by the χ^2 test. The *t*-test was used to for parametric data and the Mann-Whitney *U* test was used to compare non-parametric data. The significance level was set at $p < 0.05$. BOP, PPD and CAL were log transformed and analysis test of covariance (ANCOVA) with adjustments for race, gender, age, plaque and smoking habit was performed. Analyses were performed using by software package STATISTICA (StatSoft, Inc. 2005) version 7.1.

Results

Clinical data

The detailed demographic data from UC, CD and controls patients are

reported in Table 1. CD patients showed a significantly higher DMFT index ($p = 0.018$), less sites with plaque ($p = 0.017$) and BOP ($p = 0.038$), deeper PPD ($p < 0.0001$), and there were more subjects with periodontitis ($p = 0.03$) when compared with the controls (Table 2A).

UC patients had significantly fewer teeth ($p = 0.002$), a higher DMFT index ($p < 0.0001$), deeper PPD ($p < 0.0001$), more CAL ($p = 0.004$), more subjects with periodontitis ($p < 0.001$) and more sites with CAL ≥ 3 mm than controls ($p = 0.007$). Furthermore, UC patients had significantly higher CAL ($p = 0.005$) and a significantly higher number of sites with CAL ≥ 3 mm ($p = 0.006$) than CD patients (Table 2A).

After adjustments for race, gender, smoking habit, age and plaque, CD and UC patients still had a significantly higher DMFT index ($p < 0.0001$, $p = 0.003$, respectively) and deeper PPD ($p < 0.0001$, for both) than controls. UC patients had significantly more CAL ($p = 0.02$) than controls. After the same adjustments, when compared with CD, UC patients had a significantly higher DMFT index ($p < 0.0001$) and a significantly deeper PPD ($p < 0.0001$).

Among non-smokers (Table 2B), CD patients showed significantly fewer sites with plaque ($p = 0.033$) and deeper PPD ($p < 0.0001$) when compared with controls. UC patients had a greater DMFT

score ($p = 0.037$) and deeper pockets ($p < 0.0001$) compared with controls. After adjustment for race, gender, age and plaque, both IBD groups showed deeper PPD ($p < 0.001$ for both) and greater DMFT scores ($p = 0.023$ for CD and $p = 0.005$ for UC) than controls.

Among smokers (including former smokers), CD patients had a significantly greater DMFT score ($p = 0.031$) and fewer sites with BOP ($p = 0.049$) compared with controls. UC patients had deeper pockets ($p < 0.0001$) than controls and slightly more sites with CAL ≥ 3 mm ($p = 0.076$) than CD patients (Table 2C). After adjustment for race, gender, age and plaque, CD and UC patients had greater DMFT scores ($p = 0.003$ and 0.04) as compared with controls while only UC patients showed deeper pockets ($p < 0.001$).

Periodontitis was more common among smoking patients with UC (95.2% versus 70.6%, $p = 0.008$) odds ratio 9.60 (95% confidence interval 1.38–66.82) as compared with smoking controls. Periodontitis was also more common among non-smoking UC patients than controls (84.2% versus 66.7%) but the difference did not reach significance ($p = 0.057$).

Oral lesions

No difference was apparent between the groups in the number of subjects with oral lesions, and consequently no

Table 2. Median (quartile range) for the number of teeth, percentage of sites with plaque, percentage of sites with bleeding on probing (BOP), probing pocket depth (PPD), clinical attachment loss (CAL), subjects with periodontitis and percentage of sites with AL \geq 3 mm, and mean (standard deviation) for the decayed, missing and filled tooth (DMFT) index in CD patients, UC patients and healthy controls

	Crohn's disease (n = 99)	p1	Controls (n = 74)	p2	Ulcerative colitis (n = 80)	p3
<i>(A) All subjects</i>						
Number of teeth	24.0 (9.0)	0.133	25.0 (6.0)	0.002	22.0 (10.0)	0.086
DMFT index	15.1 (7.2)	0.018	12.5 (6.8)	<0.0001	16.4 (6.6)	0.229
% of sites with plaque	38.2 (47.4)	0.017	52.7 (41.6)	0.479	53.7 (60.4)	0.239
% of sites with BOP	19.6 (20.5)	0.038	24.4 (29.7)	0.265	21.5 (21.9)	0.308
PPD (mm)	2.3 (1.3)	<0.0001	1.6 (0.4)	<0.0001	2.3 (0.4)	0.941
CAL (mm)	0.9 (0.9)	0.576	1.2 (1.0)	0.004	1.3 (1.4)	0.005
Subjects with periodontitis	81 (81.8%)	0.030	50 (67.6%)	<0.001	72 (90.0%)	0.122
% sites CAL \geq 3 mm	13.2 (21.8)	0.655	11.7 (26.5)	0.007	22.8 (39.3)	0.006
	Crohn's disease (n = 63)	p1	Controls (n = 57)	p2	Ulcerative colitis (n = 38)	p3
<i>(B) Non-smokers</i>						
Number of teeth	25.0 (9.0)	0.453	26.0 (6.0)	0.124	24.0 (10.0)	0.337
DMFT index	13.0 (6.7)	0.483	12.1 (7.2)	0.037	15.3 (7.0)	0.120
% of sites with plaque	37.5 (47.3)	0.033	51.7 (33.3)	0.566	38.3 (79.2)	0.516
% of sites with BOP	20.4 (19.0)	0.234	23.8 (29.2)	0.670	22.0 (19.0)	0.430
PPD (mm)	2.4 (1.1)	<0.0001	1.5 (0.3)	<0.0001	2.3 (0.3)	0.336
CAL (mm)	0.7 (0.8)	0.808	0.7 (0.9)	0.092	1.0 (1.4)	0.108
Subjects with periodontitis	50 (79.4%)	0.116	38 (66.7%)	0.057	32 (84.2%)	0.546
% sites CAL \geq 3 mm	10.0 (18.7)	0.910	8.7 (25.3)	0.140	14.7 (40.9)	0.162
	Crohn's disease (n = 36)	p1	Controls (n = 17)	p2	Ulcerative colitis (n = 42)	p3
<i>(C) Smokers</i>						
Number of teeth	23.0 (11.0)	0.306	23.0 (5.0)	0.067	19.5 (8.0)	0.533
DMFT index	18.7 (6.4)	0.031	13.9 (4.9)	0.228	17.4 (6.2)	0.396
% of sites with plaque	53.2 (45.6)	0.084	66.7 (42.5)	0.183	54.2 (50.4)	0.527
% of sites with BOP	17.3 (22.2)	0.049	25.0 (26.2)	0.218	20.7 (26.1)	0.359
PPD (mm)	2.0 (1.8)	0.179	1.7 (0.5)	<0.0001	2.2 (0.5)	0.249
CAL (mm)	1.1 (1.1)	0.804	1.4 (1.3)	0.402	1.6 (1.4)	0.102
Subjects with periodontitis	31 (86.1%)	0.177	12 (70.6%)	0.008	40 (95.2%)	0.159
% sites CAL \geq 3 mm	22.8 (27.6)	0.826	22.4 (39.7)	0.436	31.7 (33.8)	0.076

p1: significance of the difference between Crohn's disease (CD) patients and controls, p2: significance of the difference between ulcerative colitis (UC) patients and controls and p3: significance of the difference between CD and UC patients. Mann-Whitney *U* test was used to comparisons except for DMFT index and for subjects with periodontitis in which *t*-test and χ^2 test were used, respectively.

relationship was found between disease activity and the higher prevalence of oral lesions either in CD or in UC patients. Altogether, there were 20 patients with candidiasis lesions (CD $n = 8$, UC $n = 8$, controls $n = 4$), three with ulcerous aphtous (CD $n = 2$, UC $n = 1$) and five with lichen planus lesions (CD $n = 1$, UC $n = 3$, controls $n = 1$).

In CD group, the patients who had candidiasis were taking aminosalicylates ($n = 2$), immunomodulators ($n = 2$), aminosalicylates+immunomodulators ($n = 2$), aminosalicylates+corticosteroids+ciprofloxacin ($n = 1$) and aminosalicylates+immunomodulators+corticosteroids ($n = 1$). The patients who had ulcerous aphtous were taking aminosalicylates ($n = 1$) and a combination of aminosalicylates+immunomodulators+corticosteroids ($n = 1$). The

patient who had lichen planus was taking aminosalicylates ($n = 1$). In the UC group, all the patients who had candidiasis were taking aminosalicylates ($n = 8$) and also the patient who had ulcerous aphtous ($n = 1$). The patients who had lichen planus were taking aminosalicylates ($n = 1$) and immunomodulators ($n = 2$).

Discussion

The current study revealed that patients with UC and CD had a significantly worse oral health than matched controls. Our definition of periodontitis was based on the criteria of the American Academy of Periodontology (Lindhe et al. 1999). In an attempt to avoid false-positive cases, we considered only patients with a minimum of four sites

and at least 3 mm of CAL in different teeth as having periodontitis. According to these criteria, the prevalence of periodontitis was significantly higher in both patient groups compared with the controls. This is in line with the study by Flemmig et al. (1991), who showed a slightly higher prevalence of periodontitis in patients with IBD. Grössner-Schreiber et al. (2006) also showed that patients with IBD had slightly more sites with CAL than controls. The high prevalence of periodontitis in our control group is in accordance with an earlier population study in Brazilian adults in which 97.4% of the subjects had CAL \geq 3 mm (Susin et al. 2004).

Smokers (former and current) in all three groups had more periodontitis. Both non-smokers CD and UC patients showed deeper pockets compared with the controls after adjustments for race,

gender, smoking habit, age and plaque. This is in contrast with Grössner-Schreiber et al. (2006), who found deeper pockets in the control group compared with patients with IBD. The median pocket depth and CAL found in our patients were similar to those reported by Flemmig et al. (1991) and Grössner-Schreiber et al. (2006). However, we showed a higher prevalence of disease between the groups studied compared with the controls. A possible explanation could be that we used whole-mouth examination (six sites per tooth in all existing teeth except for the third molars), which is currently considered the gold standard. Beck et al. (2006) showed that the prevalence of periodontitis is underestimated in half-mouth studies, especially in younger populations.

UC patients, both smokers and non-smokers, had a tendency of more CAL and more sites with CAL ≥ 3 mm compared with CD, which suggests that the response to the dental plaque may be different between these groups. Indeed, CD and UC differ regarding their immunopathogenesis, which involves the T helper (Th) cell differentiation; CD is considered to be Th1 disease while UC has characteristics of a Th2 disease (Bouma & Strober 2003). Thus, it may be possible that this difference might also be reflected in the extension of periodontal destruction, but further studies are warranted to confirm this hypothesis. Another possible explanation for the difference between UC and CD regarding CAL is that the CD patients were taking significantly more immunomodulators than UC patients (data not shown). However, it is unknown whether the medications used by these patients have any effect on the periodontium.

Our findings of a higher DMFT in the patient groups are in line with earlier studies (Rooney 1984, Bevenius 1988, Sundh & Emilson 1989, Schütz et al. 2003) but in contrast with the results of Grössner-Schreiber et al. (2006). Grössner-Schreiber et al. (2006) showed no significant difference in the DMF-S index between cases and controls although IBD patients had significantly more plaque. Increased sugar consumption seems to be the main cause of a higher prevalence of caries in CD patients (Sundh & Emilson, 1989, Schütz et al. 2003). We did not take dietary records from the subjects but, as our CD patients had significantly less plaque than controls and there was no

difference regarding plaque between UC patients and controls, we speculate that the diet can be the cause of the higher DMFT index. Our study is the first to assess caries in UC patients.

We were unable to find any significant differences in the prevalence of oral lesions between the three groups. Furthermore, other previously described oral manifestations of IBD, such as cobblestone appearance of the mucosa, swelling of the oral and perioral tissues, angular cheilitis and pyostomatitis vegetans (Basu 1976, Plauth et al. 1991, Lisciandrano et al. 1996), were not observed. This may be attributable to the fact that the ongoing medication diminished these oral manifestations.

Overall, CD and UC patients had higher DMFT and prevalence of periodontitis than controls, but smoking was an effect modifier: there was no difference in the prevalence of periodontitis among non-smoking control subjects and non-smoking subjects with CD or UC, but the prevalence of periodontitis was greater among smokers with UC than smokers without UC.

Acknowledgements

We thank Juliana Menegat, Roberta Pedreira and Maria Jorginete da Silva for all their contributions during this study.

References

- Basu, M. K. (1976) Oral manifestations of Crohn's disease: studies in the pathogenesis. *Proceedings of the Royal Society of Medicine* **69**, 765–766.
- Beck, J. D., Caplan, D. J., Preisser, J. S. & Moss, K. (2006) Reducing the bias of probing depth and attachment level estimates using random partial-mouth recording. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* **34**, 1–10.
- Best, W. R., Becktel, J. M., Singleton, J. W. & Kern, F. Jr. (1976) Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* **70**, 439–444.
- Bevenius, J. (1988) Caries risk in patients with Crohn's disease: a pilot study. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* **65**, 304–307.
- Bouma, G. & Strober, W. (2003) The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology* **3**, 521–533.
- Dupuy, A., Cosnes, J., Revuz, J., Delchier, J. C., Gendre, J. P. & Cosnes, A. (1999) Oral Crohn disease: clinical characteristics and long-term

follow-up of 9 cases. *Archives of Dermatology* **135**, 439–442.

- Flemmig, T. F., Shanahan, F. & Miyasaki, K. T. (1991) Prevalence and severity of periodontal disease in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Periodontology* **18**, 690–697.
- Ghandour, K. & Issa, M. (1991) Oral Crohn's disease with late intestinal manifestations. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* **72**, 565–567.
- Greenstein, A. J., Janowitz, H. D. & Sachar, D. B. (1976) The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine (Baltimore)* **55**, 401–412.
- Grössner-Schreiber, B., Fetter, T., Hedderich, J., Kocher, T., Schreiber, S. & Jepsen, S. (2006) Prevalence of dental caries and periodontal disease in patients with inflammatory bowel disease: a case-control study. *Journal of Clinical Periodontology* **33**, 478–484.
- Jiang, L., Xia, B., Li, J., Ye, M., Yan, W., Deng, C., Ding, Y., Luo, H., Hou, W., Zhao, Q., Liu, N., Ren, H., Hou, X. & Xu, H. (2006) Retrospective survey of 452 patients with inflammatory bowel disease in Wuhan city, Central China. *Inflammatory Bowel Diseases* **12**, 212–217.
- Kinane, D. F. & Mark Bartold, P. (2007) Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontology* **2000** **43**, 278–293.
- Lindhe, J., Ranney, R., Lamster, I., Charles, A., Chung, C.-P., Flemmig, T., Kinane, D., Listgarten, M., Löe, H., Schoor, R., Seymour, G. & Somerman, M. (1999) Consensus reports: chronic periodontitis. The American Academy of Periodontology. *Annals of Periodontology* **4**, 38.
- Lisciandrano, D., Ranzi, T., Carrasi, A., Sardella, A., Campanini, M. C., Velio, P. & Bianchi, P. A. (1996) Prevalence of oral lesions in inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology* **91**, 7–10.
- MacDonald, T. T., Monteleone, G. & Pender, S. L. (2000) Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Immunology* **51**, 2–9.
- Ojima, M., Hanioka, T., Tanaka, K., Inoshita, E. & Aoyama, H. (2006) Relationship between smoking status and periodontal conditions: findings from national databases in Japan. *Journal of Periodontal Research* **41**, 573–579.
- Pallone, F. & Monteleone, G. (2001) Mechanisms of tissue damage in inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Gastroenterology* **17**, 307–312.
- Plauth, M., Jense, H. & Meyle, J. (1991) Oral manifestations of Crohn's disease. An analysis of 79 cases. *Journal of Clinical Gastroenterology* **13**, 29–37.
- Podolsky, D. K. (2002) Inflammatory bowel disease. *The New England Journal of Medicine* **347**, 417–429.
- Rooney, T. P. (1984) Dental caries prevalence in patients with Crohn's disease. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* **57**, 623–624.

- Schütz, T., Drude, C., Paulisch, E., Lange, K. P. & Lochs, H. (2003) Sugar intake, taste changes and dental health in Crohn's disease. *Digestive Diseases* **21**, 252–257.
- Sundh, B. & Emilson, C. G. (1989) Salivary and microbial conditions and dental health in patients with Crohn's disease: a 3-year study. *Oral Surgery, Oral medicine, and Oral Pathology* **67**, 286–290.
- Susin, C., Dalla Vecchia, C. F., Oppermann, R. V., Haugejorden, O. & Albandar, J. M. (2004) *Journal of Periodontology* **75**, 1033–1041.
- Truelove, S. C. & Witts, L. J. (1955) Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *British Medical Journal* **2**, 1041–1048.
- Veloso, F. T., Carvalho, J. & Magro, F. (1996) Immune-related systemic manifestations of inflammatory bowel disease. A prospective study of 792 patients. *Journal of Clinical Gastroenterology* **23**, 29–34.
- Williams, A. J., Wray, D. & Ferguson, A. (1991) The clinical entity of orofacial Crohn's disease. *The Quarterly Journal of Medicine* **79**, 451–458.
- World Health Organization (1997) *Oral Health Surveys: Basic Methods*, 4th edition. Geneva: WHO.

Address:
 Fernanda Brito
 Department of Periodontology
 Faculty of Odontology
 Rio de Janeiro State University
 Boulevard 28 de Setembro 157
 Pavilhão de Pesquisa
 Vila Isabel
 Rio de Janeiro 20551-030
 Brazil
 E-mail: femanda.brito.s@hotmail.com

Clinical Relevance

Scientific rationale for the study: CD and UC patients may be more susceptible to periodontitis because the mechanisms of tissue destruction are similar. Previously, the oral status of CD patients has been investi-

gated but data are lacking for UC patients.

Principal findings: CD and UC patients had a higher prevalence of periodontitis and a higher DMFT index than controls. A higher prevalence of periodontitis was

most pronounced in smoking UC patients.

Practical implications: CD and UC patients should be enrolled in oral care programme for early diagnosis and preventive care that includes smoking cessation.

Inter-relação entre a doença periodontal e a doença de Crohn

*Fernanda Brito*¹

*Roberta Rocha Pedreira*²

*Ricardo Guimarães Fischer*³

*Carlos Marcelo da Silva Figueredo*⁴

Resumo

O objetivo desta revisão foi avaliar os fatores envolvidos na possível relação entre a doença periodontal e a doença de Crohn. A destruição tecidual na periodontite, considerada uma reação específica do hospedeiro ao acúmulo do biofilme na margem gengival, é determinada pela natureza e pelo controle das respostas imune inata e adaptativa. Teorias têm sido postuladas a fim de explicar a progressão da gengivite para a periodontite no contexto do paradigma Th1/Th2. A doença de Crohn possui um perfil de suscetibilidade Th1 e vários mediadores inflamatórios estão induzidos na mucosa intestinal inflamada. Concluindo, é possível que haja uma maior prevalência de periodontite nos portadores de doença de Crohn, pelo fato de as duas doenças possuírem mecanismos patogênicos em comum, provavelmente, devido ao mesmo perfil linfocitário.

Palavras-chave: doença periodontal, doença de Crohn, perfil de suscetibilidade.

INTRODUÇÃO

A periodontite crônica é uma doença destrutiva, que afeta as estruturas de suporte dos dentes, incluindo ligamento periodontal, cimento e osso alveolar.

Clinicamente, há formação de bolsas e (ou) recessão gengival. Sua prevalência e severidade aumentam com a idade, podendo afetar um número variável de dentes e apresentar diferentes taxas de progressão (GENCO, 1996).

Apesar de a agressão bacteriana ser necessária para a ocorrência da doença periodontal (OFFENBACHER, 1996), o papel central na patogênese da doença periodontal é exercido pela resposta do hospedeiro através do controle das respostas imune inata e adaptativa. Esse con-

trole é, por sua vez, regulado pelas citocinas Th1/Th2, e teorias têm sido postuladas a fim de explicar a suscetibilidade à periodontite no contexto do paradigma Th1/Th2 (YAMAZAKI; YOSHIE; SEYMOUR, 2003). Várias citocinas estão envolvidas na destruição tecidual. A interleucina (IL) 1 beta (IL-1 β), por exemplo, é encontrada em níveis elevados no fluido gengival de pacientes com doença periodontal (FIGUEREDO et al., 1999). A periodontite caracteriza-se pela hiperatividade de neutrófilos, com liberação excessiva de proteases, em especial a elastase, e radicais livres de oxigênio (GUSTAFSSON; ÅSMAN, 1996).

¹ Mestre. Programa de Pós-graduação em Periodontia. Faculdade de Odontologia – UERJ. Rio de Janeiro – RJ ² Especialista.

Programa de Pós-graduação - PUC-RJ. Rio de Janeiro - RJ

³ Professor Titular de Periodontia. Faculdade de Odontologia – UERJ. Rio de Janeiro - RJ

⁴ Professor Adjunto de Periodontia. Faculdade de Odontologia – UERJ. Rio de Janeiro - RJ

Correspondência para / Correspondence to:

Fernanda Brito

Rua 5 de Julho 273/501 - Icaraí

24220 -110 Niterói - RJ - Brasil.

Tel.: (21) 2714-7694; 9861-7234

E-mail: febrsil@aol.com

Os mecanismos de destruição tecidual, semelhantes entre a periodontite e outras doenças inflamatórias crônico-destrutivas, como a artrite reumatóide, têm estimulado o estudo de possíveis associações entre essas condições (MIRANDA et al., 2003). Nossa hipótese é que pode haver uma maior prevalência de periodontite nos portadores de doença de Crohn, pelo fato de as duas doenças possuírem mecanismos patogênicos em comum, possivelmente dividindo o mesmo perfil linfocitário.

A doença de Crohn é uma enfermidade sistêmica, de etiologia desconhecida, caracterizada por um processo inflamatório crônico, que pode acometer todo o trato gastrointestinal, desde a boca até o ânus. A doença de Crohn possui um perfil de suscetibilidade Th1 e vários mediadores inflamatórios estão induzidos na mucosa dos pacientes com a doença. Entre os mediadores inflamatórios, podemos destacar: prostaglandina E2 (PGE2), leucotrieno B4, fator ativador de plaquetas (PAF), IL-8, RANTES, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-1, IL-10, IL-12, interferon gama (INF- γ), óxido nítrico e produtos reativos do oxigênio (FIOCCHI, 1998; VAN DEVENTER, 1999).

As publicações sobre as condições orais em portadores de doença de Crohn limitam-se a descrever suas manifestações orais (LISCIANDRANO et al., 1996; SCHEPER; BRAND, 2002; KATZ et al., 2003). Não há, na literatura, dados consistentes sobre as condições periodontais de pacientes com doença de Crohn. O objetivo deste estudo é avaliar a possível relação entre a periodontite e a doença de Crohn.

PERFIL TH1/TH2 E DOENÇAS CRONICO- INFLAMATÓRIAS

Mosmann e Coffman (1989) demonstraram, pela primeira vez, que clones de células TCD4+ de ratos podiam ser classificados em subpopulações funcionais distintas, baseado nos perfis de citocinas sintetizadas por essas células. O isolamento de clones Th1 e Th2 humanos por Romagnani (1994) desencadeou um

grande número de estudos sobre os efeitos do paradigma Th1/Th2 em humanos. Mais recentemente, tem sido demonstrado que outras células, além das células TCD4+, são capazes de produzir citocinas Th1 e Th2. São elas: TCD8+, monócitos, células NK, células B, eosinófilos, mastócitos, basófilos, entre outras células (YAMAZAKI; YOSHIE; SEYMOUR, 2003).

As citocinas Th1 incluem a IL-2, INF γ , IL-12 e o fator de necrose tumoral beta (TNF β), enquanto as citocinas Th2 incluem IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Em geral, as citocinas Th1 favorecem o desenvolvimento de uma resposta imune celular forte, enquanto citocinas Th2 favorecem uma forte resposta imune humoral. Algumas dessas citocinas Th1 /Th2 exercem uma regulação cruzada. Por exemplo, o INF γ e a IL-12 diminuem os níveis de citocinas Th2, enquanto a IL-4 e a IL-10 diminuem os níveis de citocinas Th1 (GEMMELL; SEYMOUR, 2004).

As citocinas são utilizadas para o exame de doenças humanas, incluindo infecções causadas por vírus, bactérias, parasitas e fungos assim como condições auto-imunes, reumatológicas e condições inflamatórias idiopáticas (SINGH; MEHROTRA; AGARWAL, 1999). Vários autores sugerem que, em condições inflamatórias auto-imunes, como diabetes, esclerose múltipla e artrite reumatóide, as células Th1 são patogênicas, e as células Th2 protetoras (LAFAILLE, 1998). Entretanto, os dados ainda não são conclusivos. O conceito Th1/Th2 sugere que as citocinas Th1/Th2 regulam o equilíbrio entre proteção e imunopatologia, assim como o desenvolvimento e (ou) a severidade de algumas desordens imunológicas (SINGH; MEHROTRA; AGARWAL, 1999).

PERFIL TH1/TH2 E DOENÇA PERIODONTAL

Na última década, várias teorias têm sido postuladas a fim de explicar a progressão da gengivite para a periodontite, no contexto do paradigma Th1/Th2. No modelo proposto por Seymour e colaboradores (1993), as células Th1 estão associadas à gengivite, enquanto as célu-

las Th2 estão associadas à periodontite (GEMMELL; SEYMOUR, 2004).

Esse modelo está baseado na classificação histológica da doença periodontal proposto por Page e Schroeder (1976), no qual as células predominantes na periodontite são os plasmócitos. Como a resposta Th2 favorece uma resposta imune humoral, os autores inferiram que a periodontite possui um perfil Th2.

No modelo proposto por Ebersole e Taubman (1994), as células Th1 são consideradas como o resultado da destruição tecidual, e as células Th2 são consideradas protetoras. Nesse modelo, INF- γ estimula principalmente monócitos e macrófagos a produzirem citocinas pró-inflamatórias e PGE₂, resultando em uma condição local hiper-reativa que leva à destruição do tecido conjuntivo e à reabsorção do osso alveolar em pacientes suscetíveis (YAMAZAKI; YOSHIE; SEYMOUR, 2003).

As evidências acumuladas têm sugerido que a análise de células T é de extrema importância tanto na compreensão da patogênese da doença periodontal quanto no desenvolvimento de novas imunoterapias. Entretanto, as duas hipóteses têm sido enfraquecidas por achados contraditórios, e a interpretação dos resultados dos estudos é prejudicada devido às diferenças metodológicas, como utilização de diferentes tipos de células, incluindo células extraídas dos tecidos gengivais, células mononucleares periféricas do sangue, diferentes clones de células T e a utilização *in vitro* de componentes de diferentes cepas bacterianas (GEMMELL; SEYMOUR, 2004).

DOENÇA INTESTINAL INFLAMATÓRIA

A doença intestinal inflamatória (DII) é uma denominação geral para um grupo de distúrbios inflamatórios crônicos que envolvem o trato gastrointestinal, de causa desconhecida, embora aspectos familiares ou genéticos, infecciosos, imunológicos e psicológicos têm sido sugeridos. A doença intestinal inflamatória pode ser dividida em duas doenças principais: a colite ulcerativa (UC) e a doença de Crohn (DC) (GLICKMAN, 1998).

Ambas as doenças são mais comuns em indivíduos brancos, e os sexos são igualmente afetados. Na Europa Ocidental e nos EUA, a colite ulcerativa apresenta a prevalência de, aproximadamente, 70 a 150 casos por 100.000 habitantes, e a incidência de 6 a 8 casos por 100.000 habitantes. A prevalência da doença de Crohn é de, aproximadamente 20 a 40 casos para 100.000 habitantes, e a incidência de 2 casos por 100.000 habitantes (LOGAN, 1998). No Brasil, esses dados são desconhecidos. A doença mostra um pico entre os 13 e 35 anos de idade, mas já foi descrita em todas as faixas etárias. Há uma incidência familiar de DII com transmissão vertical e horizontal, na qual 2 % a 5% das pessoas terão um ou mais parentes afetados (GLICKMAN, 1998).

O diagnóstico da DII é baseado, inicialmente, na história clínica e confirmado através de endoscopia, radiografia, colonoscopia e achados patológicos. Os achados estão relacionados à localização anatômica das lesões, suas repercussões no estado geral do doente e à presença de complicações. Os principais sintomas da DII são diarreia e dor abdominal e, nos casos mais graves, emagrecimento e febre. As características extra-intestinais associadas podem incluir inflamação dos olhos, lesões de pele, artrite e úlceras aftosas (FIOCCHI, 1998; GLICKMAN, 1998; HANAUER; SANDBORN, 2001).

A atividade da DII é definida de acordo com os parâmetros clínicos, manifestações sistêmicas e o impacto global da doença na qualidade de vida do indivíduo. O tratamento bem sucedido de pacientes com DII inclui três componentes essenciais: (1) indução e manutenção da remissão da doença, (2) promoção da cicatrização do epitélio da mucosa e (3) prevenção de complicações pós-operatórias (estenose, fístulas e má-nutrição) associadas à doença. O tratamento medicamentoso inclui anti-inflamatórios, antibióticos, imunossuppressores e, mais recentemente, um anticorpo monoclonal anti-TNF α tem sido utilizado em pacientes com doença de Crohn. O tratamento cirúrgico está indicado nas complicações (perfuração, obstrução), ausência de resposta ao tratamento clínico e comprometimento grave de

crescimento em crianças (FIOCCHI, 1998). No caso da doença de Crohn, mais de 2/3 dos pacientes terão complicações que necessitarão de cirurgia (HANAUER; SAND-BORN, 2001).

PERFIL TH1/TH2 E DOENÇA INTESTINAL INFLAMATÓRIA

Reinecker e colaboradores (1993) quantificaram a capacidade de liberação das citocinas pró-inflamatórias TNF α , IL-6 e IL-1 β por células mononucleares da lâmina própria (LPMNC) isoladas de biópsias colonoscópicas da mucosa intestinal de pacientes com DII. Os autores mostraram que LPMNC derivadas da mucosa com colite ulcerativa e doença de Crohn produzem espontaneamente níveis elevados de TNF α , IL-6 e IL-1 β . As LPMNC de mucosas UC e CD não-envolvidas mostraram uma secreção espontânea aumentada IL-1 β e uma capacidade aumentada de produção de TNF α após estimulação, o que pode indicar uma pré-ativação. Interessantemente, o padrão de secreção de IL-6 por LPMNC foi bem diferente entre UC e CD e pode indicar diferenças imunológicas importantes entre essas duas doenças. Esses resultados suportam a hipótese que, na UC e CD, a resposta inflamatória protetora está super-regulada, e que células efectoras altamente ativadas produzem grandes quantidades de moléculas pró-inflamatórias que podem contribuir para o dano celular no intestino.

Estudos com pacientes com doença de Crohn estabelecida têm corroborado o predomínio da resposta Th1. Na colite ulcerativa, no entanto, uma resposta imune humoral forte parece predominar, mas a evidência de um predomínio clássico Th2 não está tão caracterizada (VAN DEVENTER, 1999).

CONDIÇÕES PERIODONTAIS EM PACIENTES COM DII

A maior parte das publicações sobre odontologia em pacientes com doença de Crohn limita-se a descrever as manifestações orais da CD como, por exemplo, a frequência e o tipo

das lesões mucosas (BASU et al., 1975; HALME et al., 1993).

Meurman e colaboradores. (1994) investigaram aspectos gengivais, dentários e salivares em 53 pacientes com CD, divididos em pacientes com doença ativa (n=32) e pacientes com doença inativa (n=21). O exame oral não revelou diferença estatística nos índices dental ou gengival, mas os pacientes com doença ativa tenderam a apresentar escores mais altos de gengivite.

Flemming, Shanahan e Miyasaki (1991) avaliaram a doença periodontal em 107 pacientes com DII, sendo 46 com DC e 61 com UC. Os autores realizaram o exame periodontal nas faces mesial e méso-vestibular de um quadrante e no quadrante contralateral da arcada oposta. Os resultados mostraram que 93.5% dos pacientes DC e 95.1% dos pacientes UC possuíam, pelo menos, 1 sítio com nível de inserção $\geq 2\text{mm}$ e que 28.3% dos pacientes DC e 29.5% dos pacientes UC possuíam pelo menos 1 sítio com profundidade de bolsa $\geq 4\text{mm}$. Os autores concluíram que os pacientes com DII eram mais suscetíveis à doença periodontal leve e menos suscetíveis à doença periodontal severa.

DISCUSSÃO

Tanto no periodonto quanto no intestino, mesmo no estado de saúde, há um íntimo contato entre a flora local e os tecidos do hospedeiro, ou seja, os tecidos gengivais, na doença periodontal, e a mucosa intestinal da DII (GENCO, 1996; FIOCCHI, 1998). Na doença periodontal, embora a função dos microorganismos já tenha sido determinada, eles não são suficientes para causar doença (GENCO, 1996; OFFENBACHER, 1996). Na DII, até o momento, nenhum microorganismo foi isolado. Alguns autores sugerem que o rompimento da integridade da mucosa possa ser o estímulo inicial. Nesse caso, qualquer desequilíbrio local funciona como um gatilho para o desenvolvimento da doença em indivíduos suscetíveis (DIGNASS; BAUMGART; STURM, 2004). A resposta imuno-in-

flamatória é o fator-chave nessas duas doenças, caracterizadas pela produção local de vários mediadores inflamatórios (FIGUEREDO et al., 1999; VAN DEVENTER, 1999).

Na DII, a reação inflamatória é mais agressiva na doença de Crohn do que na colite ulcerativa. A gengivite se assemelha à colite ulcerativa, enquanto a periodontite à doença de Crohn. Na resposta Th1, o INF γ atua nas células fagocíticas, levando a uma resposta hiperreativa. As evidências de uma resposta imune celular forte nos fazem acreditar que a periodontite se comporta de forma similar à doença de Crohn e a outras doenças imunoinflamatórias nas quais o perfil Th1 é patogênico.

Os estudos indicam uma hiperreatividade de neutrófilos na periodontite (FIGUEREDO et al., 1999), constatada pela liberação aumentada de enzimas proteolíticas e radicais de oxigênio (GUSTAFSSON; ÅSMAN, 1996). Gustafsson, Åsman e Bergstrom (1994) mostraram que, em sítios com gengivite e periodontite, o número de neutrófilos no fluido gengival parece ser similar, sugerindo que a hiperatividade dessas células, e não a quantidade, seja o fator decisivo no processo destrutivo periodontal.

Essa hiperreatividade de neutrófilos em pacientes com periodontite pode ser uma característica constitucional dos neutrófilos, ou ser devida à pré-ativação de células circulantes (HALLETT; LLOYDS, 1995). Na DII, parece provável que os mediadores inflamatórios presentes na corrente sanguínea pré-ativem os neutrófilos. Sendo assim, quando presentes no tecido gengival, os neutrófilos apresentariam um fenótipo hiperreativo, levando a uma maior destruição periodontal.

Na doença de Crohn, apesar de inúmeras questões relacionadas à patogenia da doença não terem sido elucidadas, a determinação do perfil de suscetibilidade permite, recentemente,

que pacientes com doença severa sejam tratados com um anticorpo quimérico monoclonal anti-TNF α . Através dessa medicação, há uma sub-regulação da resposta inflamatória, e os pacientes entram em remissão, sem que haja necessidade de cirurgia de remoção de parte do intestino.

Pelo fato de possuírem os mesmos mecanismos patogênicos e, possivelmente, possuírem o mesmo perfil linfocitário, é provável que pacientes com doença de Crohn tenham uma maior prevalência de periodontite, ou que a periodontite seja mais severa. A possibilidade de estudar o comportamento da periodontite nesses pacientes é entusiasmante. Além da ausência de dados periodontais concretos em pacientes com DII, há a possibilidade de se estudar o comportamento da periodontite em pacientes que fazem uso de uma medicação nova, atuante na resposta imunológica.

Ainda estamos distantes da descoberta dos fatores que causam a doença periodontal e da identificação dos indivíduos que provavelmente irão desenvolvê-la. Nesse contexto, a importância da determinação do perfil de suscetibilidade da periodontite é ressaltada, porque, assim como na doença de Crohn, se ainda somos incapazes de atuar na causa, talvez possamos modular a resposta do hospedeiro. A determinação do perfil de suscetibilidade pode permitir, futuramente, a utilização de drogas que restituam o equilíbrio imunológico, o que, conseqüentemente, auxiliará no controle da periodontite tão logo esta seja identificada.

CONCLUSÃO

É possível que haja uma maior prevalência de periodontite nos portadores de doença de Crohn, pelo fato de as duas doenças possuírem mecanismos patogênicos em comum, provavelmente devido ao mesmo perfil linfocitário.

Interrelationship between periodontal disease and Crohn's disease

Abstract

The aim of this review was to assess the possible relationship between periodontal disease and Crohn's disease. The tissue destruction in periodontitis, a specific host reaction against the local accumulation

of bacteria, is determined by the nature and the balance of cellular and humoral immune responses. Theories have been postulated to explain the progression of gingivitis to periodontitis in the context of the Th1/Th2 paradigm. Crohn's disease has a Th1 profile and a number of inflammatory mediators are present in the inflamed intestinal mucosa. In conclusion, it is possible periodontitis is more prevalent in patients with Crohn's disease because these two diseases share pathogenic pathways, probably, due to the same T cells profile.

Keywords: Periodontal disease- Crohn's disease - T cells profile.

REFERÊNCIAS

- BASU, M.K. et al. Oral manifestations of Crohn's disease. *Gut*, London, v.16, p.249-254, 1975.
- DIGNASS, A.U.; BAUMGART, D.C.; STURM, A. Review article: the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease-immunology and repair mechanisms. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, Oxford, v.20, p.9-17, 2004. Suppl. 4.
- EBERSOLE, J.L.; TAUBMAN, M.A. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontol. 2000*, Copenhagen, v.5, p.112-114, 1994.
- FIGUEREDO, C.M. et al. Increased interleukin-1 beta concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.23, p.432-436, 1999.
- FIOCCHI, C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, Philadelphia, v.115, p.182-205, 1998.
- FLEMMING, T.F.; SHANAHAN, F.; MIYASAKI, K.T. Prevalence and severity of periodontal disease in patients with inflammatory bowel disease. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.18, p.690-697, 1991.
- GEMMEL, E.; SEYMOUR, J.G. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol. 2000*, Copenhagen, v.35, p.21-41, 2004.
- GENCO, R.J. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J. Periodontol.*, Chicago, v.67, p.1041-1049, 1996.
- GLICKMAN, R.M. Doença intestinal inflamatória: colite ulcerativa e doença de Crohn. In: HARRISON, T.R. *Medicina interna*. 14.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1998. v.2, cap.286, p.1739-1752.
- GUSTAFSSON, A.; ÅSMAN, B. Increased release of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fc delta-receptor stimulation. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.23, p.38-44, 1996.
- GUSTAFSSON, A.; ÅSMAN, B.; BERGSTROM, K. Elastase and lactoferrin in gingival crevicular fluid: possible indicators of a granulocyte-associated specific host response. *J. Periodont. Res.*, Copenhagen, v.29, n.4, p.276-282, 1994.
- HALLETT, M.B.; LLOYDS, D. Neutrophil priming: the cellular signals that say "amber" but not "green". *Immunol. Today*, Barking, v.16, p.264-268, 1995.
- HALME, L. et al. Oral findings in patients with active or inactive Crohn's disease. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, St. Louis, v.76, p.175-181, 1993.
- HANAUER, S.B.; SANDBORN, W. Management of Crohn's disease in adults. *Am. J. Gastroenterol.*, New York, v.96, p.635-643, 2001.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UERJ



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Rio de Janeiro, 01 de junho de 2005

Do: Comitê de Ética em Pesquisa
Prof. Paulo José D'Albuquerque Medeiros
Para: Aut. Fernanda de Brito Silva
Orient. Prof. Ricardo Guimarães Fischer

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto (1192-CEP/HUPE – CAAE:0081.0.228.000-05) "AVALIAÇÃO CLÍNICA, MICROBIOLÓGICA E IMUNOLÓGICA DA DOENÇA PERIODONTAL EM PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Prof. Paulo José D'Albuquerque Medeiros
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

- Coordenador:
 Luiz Carlos Duarte de Miranda
Médico - Prof. Adjunto
- Secretário:
 Márcio Teixeira Antonio
Farmacêutico - Especialista
- Membros Titulares:
 Alice Helena Dória Vianna
Médico - Prof. Adjunto
 Antonio de Magalhães Marinho
Enfermeiro - Mestre
 Beatriz Moutz Toppo
Médico - Doutoranda
 Eduardo Jorge Basso
Câncer
Médico - Prof. Assistente
 Elias Regina Ambrósio
Assistente Social - Mestre
 Luiz Evaristo Pereira da Cunha
Médico - Especialista
 Marlene Fátima Gomes Lopes
- Representantes Usúrios:
 Paulo Feijó Basso
Médico - Prof. Adjunto
 Zuzenete Rodrigues da Silva
Profcia
- Membros Suplentes:
 Alberto Krzyem Abreu
Médico - Doutorando
 Daniel Swyggen Marinho
Farmacêutico - Especialista
 Helena Wieszynsky
Representante dos Usúrios
 Lucio da Conceição de Araújo Mesquita
Enfermeiro - Mestre
 Maria Adelaide Moreira dos Santos
Núncia - Mestre
 Mirio Fernando Pechold
Especialista - Doutor
 Orlando Nunes Oliveira
Sociólogo - Doutor
 Roberto Coury Pedrosa
Médico - Doutor
 Vera Lúcia de Oliveira
Assistente Social

CEP - MEMO - n.º 629/06

Rio de Janeiro, 27 de julho de 2006

Do: Coordenador do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Dra. Fernanda de Brito Silva

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa.

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. Sa. que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 107/06 - CEP

Título: "Avaliação Clínica, Microbiológica e Imunológica da Doença Periodontal em Pacientes com Doença de Crohn".

Pesquisador (a) responsável: Dra. Fernanda de Brito Silva

Data de apreciação do parecer: 24/07/2006

Parecer: "APROVADO"

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral, previsto para 24/01/2006, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII. 13.d., da Resolução n.º 196/96 - CNS/MS).

Atenciosamente,

Prof. Luiz Carlos Duarte de Miranda
Coordenador do CEP

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)