

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

Flávia Silva Farah Ferreira Braga

**NÍVEIS DA INTERLEUCINA-18 NO FLUIDO GENGIVAL DE PACIENTES COM
ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL**

RIO DE JANEIRO
2006

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

Flávia Silva Farah Ferreira Braga

**NÍVEIS DA INTERLEUCINA-18 NO FLUIDO GENGIVAL DE PACIENTES COM
ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia da UERJ como um dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre em
periodontia.**

**Orientador: Prof. Carlos Marcelo da
Silva Figueredo.**

Rio de Janeiro
2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

Flávia Silva Farah Ferreira Braga

**NÍVEIS DA INTERLEUCINA-18 NO FLUIDO GENGIVAL DE PACIENTES COM
ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL**

Rio de Janeiro, 20 de fevereiro de 2006.

Professora: _____
Letícia Algarves Miranda

Professor: _____
Ricardo Guimarães Fischer

Professor: _____
Márcio Eduardo Falabela

Resumo

Esta dissertação é baseada na hipótese de que adolescentes com artrite idiopática juvenil (AIJ) teriam níveis elevados da interleucina (IL) -18, no fluido gengival, o que possivelmente justificaria a maior frequência de perda de inserção periodontal encontrada previamente nestes pacientes. Os objetivos deste estudo foram: analisar os níveis da interleucina (IL)-18, da metaloproteinase de matriz (MMP)-8 e da interleucina (IL)-1 β no fluido gengival de pacientes com artrite idiopática juvenil (AIJ), e compará-los aos níveis destes marcadores em controles saudáveis; observar se a atividade da AIJ influencia os níveis da IL-1 β , da IL-18 e da MMP-8 no fluido gengival; e evidenciar se existem correlações entre a IL-18, a IL-1 β e a MMP-8. Para isso, após o exame reumatológico e periodontal, foi coletado o fluido gengival de 4 a 6 sítios com maior profundidade de sondagem em 17 pacientes com AIJ e em 14 controles. Os níveis da MMP-8, da IL-1 β e da IL-18 foram medidos pelo método ELISA. Os pacientes com AIJ foram divididos em ativos e inativos. Todos os parâmetros clínicos periodontais foram similares entre pacientes com AIJ ativos e inativos, bem como entre os grupos AIJ e controle ($p \geq 0,05$). Nenhuma diferença significativa foi encontrada para os níveis da MMP-8, da IL-1 β e da IL-18 entre pacientes com AIJ e controles e entre ativos e inativos, porém, houve uma tendência para menores níveis da IL-1 β no grupo AIJ e da MMP-8 no grupo AIJ em atividade. A IL-1 β foi positivamente correlacionada à IL-18 e à MMP-8 no fluido gengival. Assim sendo, pode-se concluir que apesar dos níveis da IL-1 β , da IL-18 e da MMP-8 terem sido semelhantes entre os grupos AIJ e controle, a IL-1 β tendeu a menores níveis no grupo AIJ; a atividade da AIJ não influenciou os níveis da IL-1 β e da IL-18, mas a MMP-8 tendeu a ser menor no grupo AIJ com atividade; no fluido gengival de ambos os grupos, foram encontradas correlações positivas entre a IL-1 β e a IL-18, e entre a IL-1 β e a MMP-8.

Palavras chaves: periodontite, artrite idiopática juvenil, interleucina-18, interleucina- 1 β e metaloproteinase de matriz- 8.

Abstract

This work is based on the hypothesis that adolescent with juvenile idiopathic arthritis (JIA) would have high levels of interleucina (IL)-18 in the gingival fluid, what could possibly justify the higher frequency of periodontal attachment loss previously found in these patients. The aims of this study were: analyze interleucina (IL)-18, matix metaloproteinase (MMP)-8 and of interleucina (IL)-1 β levels in the gingival fluid of JIA patients and compare them to the levels of these markers in healthful controls; observe, in the gingival fluid, if the JIA activity influences the levels of IL-1 β , IL-18 and MMP-8; and evidence if there are correlations between IL-18, IL-1 β and MMP-8. After the rheumatologic and periodontal examination, the gingival fluid samples of 4 up to 6 sites were collected with the deepest probing depth in 17 patients with JIA and 14 control patients. MMP-8, IL-1 β and IL-18 levels were measured by ELISA method. The patients with JIA were divided in active and inactive groups. All the periodontal clinical parameters were similar among active and inactive JIA as well as among the groups JIA and control patients ($p \geq 0, 05$). No significant difference was found for the levels of MMP-8, IL-1 β and IL-18 among JIA patients and controls patients, and among active and inactive JIA; however there was a trend for lower levels of IL-1 β and MMP-8 in JIA and active JIA groups respectively. IL-1 β was positively correlated to the IL-18 and MMP-8 in the gingival fluid. Thus, despite of the IL-1 β , IL-18 and MMP-8 levels have been similar among JIA and controls groups, the IL-1 β tended to lower levels in JIA group; the JIA activity did not influence the IL-18 and IL-1 β levels, however, the MMP-8 tended to lower levels in active JIA patients; in gingival fluid of both groups, it were observed positive correlations among IL-1 β and IL-18, and among IL-1 β and MMP-8.

Key words: periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, interleukin-18, interleukin- 1 β and matrix metalloproteinase-8.

Sumário

1-	Introdução	1
2-	Revisão da Literatura.....	3
2.1-	Articulações	3
2.2-	Artrite	3
2.3-	Artrite Reumatóide	4
2.4-	Artrite Idiopática Juvenil.....	4
2.4-1.	Definição	4
2.4-2.	Epidemiologia	4
2.4-3.	Classificação.....	5
2.4-4.	Avaliação Clínica Reumatológica.....	6
2.4-5.	Etiologia	7
2.4-6.	Patogenia	8
2.4-7.	Tratamento.....	11
2.5-	Periodontite.....	13
2.5-1.	Hipóteses de associação entre a artrite reumatóide e a periodontite	16
2.6-	Interleucina -1	18
2.7-	Interleucina (IL)- 18	20
2.8-	Metaloproteinase-8	22
3-	Objetivos.....	26
4-	Materiais e Métodos	27
4.1-	Tipo de Estudo.....	27
4.2-	Amostra	27
4.2-1.	Definição da Exposição.....	27
4.2-2.	Seleção dos Pacientes com AIJ	27
4.2-3.	Seleção do Grupo Controle	28
4.2-4.	Crítérios de exclusão dos participantes da amostra.....	28
4.3-	Considerações Éticas	29
4.4-	Questionários	29
4.5-	Avaliação do Paciente	29
4.6-	Avaliação Periodontal.....	30
4.7-	Amostras de fluido gengival.....	31
4.8-	Amostras de Sangue	31
4.9-	Ensaio de IL-1 β , MMP-8 e IL-18	31
4.10-	Marcadores laboratoriais de atividade de AIJ	32
4.11-	Análise Estatística:	32
5-	Resultados.....	33
5.1-	Pacientes com AIJ:	33
5.2-	Pacientes AIJ X Controles:.....	34
5.2-1.	Achados clínicos periodontais:.....	34
5.2-2.	Marcadores inflamatórios no fluido gengival e no plasma:	35
5.3-	Ativos X Inativos.....	35
5.3-1.	Achados clínicos periodontais:.....	36
5.3-2.	Achados reumatológicos	36
5.3-3.	Marcadores inflamatórios no fluido	37
5.4-	Correlações entre os marcadores inflamatórios no fluido gengival.	38
6-	Discussão	39
7-	Conclusão	42
	Referências	43

1- Introdução

A definição de critérios de susceptibilidade para a periodontite é uma busca constante da periodontia moderna, sendo da maior importância, uma vez que possibilitaria melhorias no diagnóstico precoce e no tratamento dessa doença. Tem sido sugerido que alguns fatores como o fumo, a diabetes melitus e fatores genéticos possam alterar o processo saúde-doença periodontal, modificando a suscetibilidade à periodontite^{41; 43; 67}. Recentemente, um trabalho de nosso grupo verificou que adolescentes com artrite idiopática juvenil, uma doença caracterizada pela presença de artrite crônica de início antes dos 16 anos de idade e sem causa conhecida⁶⁰, apresentavam uma maior suscetibilidade à perda de inserção periodontal comparado a controles da mesma idade⁵⁶. Posteriormente, foi observado que indivíduos com artrite idiopática juvenil (AIJ) possuíam maiores níveis sorológicos da interleucina-18 (IL-18), especialmente na presença de perda de inserção periodontal⁵⁵. Estes achados sugerem que a AIJ possa ser uma condição de risco à periodontite e que talvez a IL-18 seja uma citocina importante neste aumento à suscetibilidade.

A interleucina (IL) -18 é uma citocina que atua tanto na imunidade inata como na adquirida. Esta citocina, em sinergismo com a interleucina-12 (IL-12), promove uma resposta T auxiliar do tipo Th1¹⁵ e parece desempenhar um importante papel na artrite reumatóide (AR)²⁸. A IL-18 é capaz de ativar neutrófilos, ampliando funções como a degranulação e o pico respiratório, contribuindo para a degradação tecidual⁴⁵. Devido à sua semelhança e associação com a interleucina (IL) -1, a IL-18 tem despertado forte interesse na periodontia. A análise de biópsias de tecidos gengivais afetados pela periodontite revelou uma correlação positiva entre os níveis da IL-18 e a profundidade de bolsa, sugerindo um papel de importância desta citocina na patogênese da periodontite³⁷. A IL-18 está correlacionada a IL-

1 β no soro de pacientes com AIJ⁵⁵ e parece dirigir a produção da IL-1 β e do TNF- α no tecido sinovial³⁸.

A IL-1 β , assim como a IL-18, está envolvida tanto na patogênese da AR como da periodontite. Os níveis desta citocina estão aumentados no soro e no fluido sinovial de pacientes com artrite reumatóide (AR)^{3;44}. A IL-1 β apresenta-se mais elevada em sítios com periodontite comparado a sítios saudáveis²⁰. Esta citocina aumenta a adesividade das células endoteliais humanas aos neutrófilos do sangue periférico, aumentando o recrutamento de leucócitos polimorfonucleares para a lesão inflamatória⁸. Além disso, a IL-1 β parece estimular a produção de metaloproteinases de matriz (MMP), como a MMP-8⁷⁵.

A MMP-8 é uma metaloproteinase da classe das collagenases intersticiais, e parece desempenhar um importante papel na periodontite⁷³. Níveis elevados da MMP-8 estão associados a sítios com maior destruição periodontal⁵⁰. Esta enzima é estocada no grânulo secundário de neutrófilos, e sua liberação para o meio externo ocorre durante a migração desta célula para a lesão inflamatória⁷. Assim, a MMP-8 pode ser considerada um possível marcador do número de neutrófilos no tecido inflamado.

Neste contexto, esta dissertação foi baseada na hipótese de que adolescentes com AIJ teriam níveis elevados da IL-18 no fluido gengival, o que aumentaria a suscetibilidade a destruição tecidual, justificando, nestes pacientes, uma maior frequência de perda precoce da inserção periodontal. Assim, os objetivos deste trabalho foram: analisar os níveis da IL-18, IL-1 β e MMP-8 no fluido gengival de pacientes portadores de AIJ, e compará-los aos níveis destes marcadores no fluido gengival de indivíduos saudáveis; observar se a atividade da AIJ influencia os níveis da IL-1 β , da IL-18 e da MMP-8 no fluido gengival; e evidenciar se existem correlações entre os níveis da IL-1 β , IL-18 e MMP-8.

2- Revisão da Literatura

2.1- Articulações

As articulações são estruturas localizadas entre os ossos que, dependendo de suas características, proporcionam grandes ou pequenos movimentos a estas estruturas. Os principais tipos de articulações existentes no corpo humano são: as articulações fibrosas, as cartilaginosas e as sinoviais ⁷⁴.

Muito embora a artrite crônica possa acometer qualquer uma das articulações, as articulações sinoviais são as mais freqüentemente afetadas. Este tipo de articulação está em maior número no corpo humano e permite uma maior mobilidade aos ossos. As articulações sinoviais são compostas por 4 estruturas distintas: a cartilagem articular, a cápsula articular, a membrana sinovial (sinóvia) e o líquido sinovial. A membrana sinovial é a camada mais interna da cápsula articular e consiste num tecido conjuntivo frouxo cuja superfície interna é bem suprida de vasos. Esta estrutura produz um líquido espesso chamado líquido sinovial que tem a função de nutrir e lubrificar as superfícies articulares ⁷⁴.

2.2- Artrite

A artrite é definida como a inflamação da articulação e é caracterizada pela presença de edema, hiperemia, dor local, limitação de movimentos e impotência funcional ⁶⁰. A artrite é uma manifestação comum à maioria das doenças reumáticas que comprometem as articulações, como a artrite reumatóide, a artrite idiopática juvenil e a osteoartrite ^{12; 58}.

Muito embora a artrite idiopática juvenil e a artrite reumatóide não sejam semelhantes no comportamento clínico e apresentem diferenças genéticas, ambas são consideradas

doenças auto-imunes do tecido conjuntivo, onde a inflamação crônica das articulações e a destruição progressiva dos tecidos articulares estão presentes^{12; 58}, levando a deformidades.

2.3- Artrite Reumatóide

A artrite reumatóide é um tipo de doença reumatológica que envolve o tecido conjuntivo cujas alterações predominantes ocorrem nas estruturas articulares, periarticulares e tendinosas. Manifesta-se através dos sinais cardinais de inflamação e o substrato anatômico mais característico é a membrana sinovial¹².

Num sentido amplo, a etiologia da artrite reumatóide tem, até o momento, uma conotação multifatorial, que parece relacionar fatores comportamentais, fatores ambientais (vírus, bactérias, etc), o patrimônio genético, desequilíbrio imunológico e alterações neuroendócrinas¹².

2.4- Artrite Idiopática Juvenil

2.4-1. Definição

Quando os sinais da artrite ocorrem em crianças e adolescentes antes dos 16 anos de idade, sem causa conhecida, persistem por no mínimo 6 semanas e outros processos patológicos são descartados do diagnóstico, ela é denominada de artrite idiopática juvenil (AIJ)⁶⁰.

2.4-2. Epidemiologia

Com relação aos dados epidemiológicos da artrite idiopática juvenil, estes são bastante heterogêneos. A prevalência da AIJ varia de 30 a 150 casos em 100.000 indivíduos com uma incidência anual de 5 a 18 casos em 100.000, na Europa e nos Estados Unidos²³. No Brasil, os dados epidemiológicos são inexistentes, mas esta condição não parece ser rara, podendo acometer crianças de qualquer sexo, idade, raça ou nível sócio-econômico⁵⁸.

Estudos sobre a idade de início da AIJ indicam um pico em crianças com menos de 5 anos de idade e outro no grupo de 10 a 16 anos ⁵⁸. As articulações mais afetadas parecem ser os joelhos, tornozelos, quadril, mãos, pés, punhos e cotovelos ⁷⁰.

2.4-3. Classificação

A artrite idiopática juvenil corresponde a um conjunto de doenças caracterizadas pela presença de artrite crônica, e é categorizada em 7 subtipos de acordo com a classificação da *International League of Association for Rheumatology (ILAR)* ⁶⁰. O objetivo primário dos critérios de classificação propostos pela ILAR é delinear, para auxiliar em pesquisas, categorias exclusivas de artrite idiopática juvenil, baseada no predomínio de características clínicas e laboratoriais ⁶⁰.

O princípio desta classificação é que todas as categorias de AIJ são mutuamente exclusivas. Logo, para que o diagnóstico do subtipo de AIJ seja dado, alguns princípios devem ser considerados. Estes princípios incluem: a) presença de psoríase no paciente ou em parente de primeiro grau; b) artrite começando após os 6 anos de idade em indivíduos do sexo masculino positivos para o antígeno de histocompatibilidade (HLA) -B27; c) paciente portador ou com histórico familiar em parente de primeiro grau de espondilite anquilosante, artrite relacionada a entesite, sacroilite com doença óssea inflamatória, Síndrome de Reiter ou uveíte anterior aguda ; d) presença de IgM fator reumatóide em no mínimo 2 ocasiões com espaço de 3 meses e e) presença de AIJ sistêmica no paciente. Após a análise destes pontos a AIJ será classificada de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1: subtipos de AIJ

Subtipo	Características
Artrite sistêmica	Artrite com ou precedida por febre diária (mínimo de 3 dias), por no mínimo 2 semanas de duração, acompanhada de exantema reumatóide, linfadenopatia, hepato/esplenomegalia e serosite.
Poliartrite (FR negativo)	Artrite em 5 ou mais articulações. FR negativo.
Poliartrite (FR positivo)	Artrite em 5 ou mais articulações. FR positivo em 2 ocasiões, com no mínimo 3 meses de intervalo.
Oligoartrite	Artrite em 1 a 4 articulações durante os primeiros 6 meses de doença.
Persistente	Não afeta mais de 4 articulações durante o curso da doença.
Estendida	Afeta cumulativamente 5 ou mais articulações após os 6 primeiros meses de doença.
Artrite relacionada com entesite	Artrite e entesite.
Artrite psoriásica	Artrite e psoríase.
Outros	Casos que não preenchem categorias acima ou preenchem mais de uma das categorias.

FR: fator reumatóide.

2.4-4. Avaliação Clínica Reumatológica

A extensão e severidade da artrite em crianças e adolescentes serão atribuídas mediante a avaliação clínica do número de articulações com dor, edema e limitação de movimento 64. Escalas visuais análogas subjetivas, registrando uma visão global do médico e do paciente ou seu responsável, sobre a saúde do paciente, também são úteis na avaliação clínica. Questionários, como o questionário de avaliação de saúde em criança Children Health Assessment Questionnaire, CHAQ⁴⁶, avaliando a capacidade funcional do paciente, são comumente empregados.

Além da avaliação clínica, alguns exames laboratoriais de caráter inespecífico podem ser pedidos com o objetivo de avaliar a presença da lesão tecidual, a intensidade da resposta inflamatória e a resposta terapêutica. Os exames laboratoriais mais comuns são as chamadas

provas de atividade inflamatória, incluindo o teste quantitativo da proteína c reativa e a velocidade de hemossedimentação (VHS)⁵⁸.

O exame radiográfico também pode auxiliar na análise da severidade e progressão das lesões articulares⁸¹.

2.4-5. Etiologia

Apesar da etiologia desconhecida, a AIJ parece ter uma característica genética complexa envolvendo o efeito de múltiplos genes relacionados à resposta imune e inflamatória. Existem algumas hipóteses para justificar o início da AIJ em indivíduos geneticamente suscetíveis. Acredita-se que a artrite em jovens e crianças possa ser desencadeada por uma infecção viral ou bacteriana, por stress psicológico, níveis hormonais anormais ou trauma nas articulações⁸³.

Várias são as teorias que procuram explicar o desenvolvimento de processos auto-imunes, como a AIJ. Uma das hipóteses sugeridas é a formação, durante a fase de maturação do sistema imune, de linfócitos auto-reativos, os chamados clones proibidos⁴. De forma geral, o sistema imune foi programado para proteger o organismo contra uma grande variedade de agentes infecciosos e utiliza para isto uma série de receptores de antígenos localizados em linfócitos T e B. A presença de um vasto número de receptores em linfócitos, ao mesmo tempo em que confere proteção contra os diversos microorganismos, coloca o indivíduo em risco de auto-imunidade. Um mecanismo protetor contra a auto-imunidade ocorre durante o desenvolvimento, quando os linfócitos auto-reativos são eliminados ou neutralizados. No entanto, alguns auto-antígenos ficam seqüestrados no interior de células ou de órgãos, não permitindo seu reconhecimento pelos linfócitos. O não encontro antígeno-linfócito, na fase de maturação do sistema imune, não induz a tolerância imunológica, mantendo linfócitos capazes de reconhecer auto-antígenos. Estes linfócitos auto-reativos são os chamados clones proibidos e se dirigem a periferia, permanecendo quiescentes, até que um conjunto de sinais

estimulatórios ative estas células. Quando, por qualquer circunstância, estes auto-antígenos são liberados, os clones proibidos reconhecem estas proteínas como estranhas, e o sistema imunológico é ativado ⁴. A natureza dos auto-antígenos ainda é desconhecida, embora existam alguns candidatos como as proteínas do choque térmico (HSP)⁸⁰ e o colágeno tipo II ⁶⁹.

Uma outra hipótese para justificar o desenvolvimento de doenças auto-imunes seria o mimetismo molecular. Assim, mesmo em indivíduos normais, proteínas virais ou de outros agentes infecciosos poderiam conter estruturas protéicas ou formas que mimetizariam proteínas do hospedeiro, desencadeando uma reação cruzada dirigida a antígenos do próprio hospedeiro ².

Além disso, a interação de superantígenos com o sistema imune também parece aumentar o risco à auto-imunidade. Os superantígenos são proteínas virais ou bacterianas que não necessitam do encaixe perfeito, clássico, do receptor de células T e da molécula do MHC classe II. Eles podem se ligar a regiões da superfície externa de certas cadeias V-beta de receptores de células T e a moléculas do complexo MHC de classe II. Desta forma possuem efeitos complexos, podendo causar deleção ou anergia de células T imaturas, além de poder ativar células maduras. Estes efeitos não são clonalmente restritos e, sim, policlonias e disseminados. Por isso, ao iniciarem uma expansão clonal, poderiam desencadear um processo de auto-imunidade ⁵⁸. Esta hipótese talvez seja de grande importância para periodontia. Um recente trabalho aponta que a inter-relação entre a artrite reumatóide e a periodontite pode ser justificada pela exposição crônica ao lipopolissacarídeo que ocorre na periodontite ⁵¹. Acredita-se que os patógenos periodontais possam funcionar como uma fonte de superantígenos, desencadeando a cascata inflamatória vista na artrite reumatóide ⁵¹.

2.4-6. Patogenia

A hipótese central da patogênese da AIJ é que linfócitos T reativos reconheceriam auto-antígenos associados ao complexo MHC classe II. Estes linfócitos seriam atraídos para a

membrana sinovial, onde seriam apresentados a auto-antígenos por células dendríticas, levando ao recrutamento de outras células, principalmente macrófagos e neutrófilos que contribuem para o processo de inflamação⁵⁸.

As células T são as células mononucleares mais numerosas no fluido sinovial⁸³. Sabe-se que as citocinas produzidas por estas células exercem um importante papel na regulação das reações do sistema imunológico. Os clones de células TCD4 podem ser do tipo Th1 ou Th2. As citocinas produzidas por células com o fenótipo Th1 são pró-inflamatórias e incluem o interferon gama (IFN- γ) e a interleucina (IL)- 2. No entanto, as produzidas por clones Th2 têm caráter antiinflamatório como a interleucina (IL)- 4 e a interleucina (IL)- 10⁵⁸. Pacientes com AIJ tem elevados níveis sorológicos de IL-1 β , TNF- α receptor solúvel e IL-2 receptor⁴⁹, sugerindo uma predominância das células T do fenótipo Th1 neste tipo de artrite. A ativação de células Th1 gera o estímulo de células inflamatórias que é benéfica em algumas situações, porém em doenças auto-imunes pode trazer um agravamento dos fenômenos inflamatórios. Na literatura é sugerido que as doenças auto-imunes não poderiam ser iniciadas sem o linfócito Th1 pró-inflamatório e a doença poderia ser conseqüência de uma reação pró-inflamatória exacerbada contra antígenos próprios ou, alternadamente, por um distúrbio dos mecanismos antiinflamatórios⁵⁸.

O comprometimento articular e periarticular observado na artrite crônica têm início com as alterações inflamatórias observadas na membrana sinovial, denominada de sinovite. A sinovite, ao microscópio, pode ser caracterizada por uma fase de exsudação, uma infiltração celular e, finalmente, pela formação de um tecido de granulação. Essas fases são inter-relacionadas com a doença ativa e os subseqüentes eventos imunopatológicos perpetuam essa reação inflamatória inicial, evoluindo para a cronificação do processo de doença¹². Inicialmente, a célula central deste processo seria o macrófago que, após a fagocitose do antígeno, secretaria mediadores pró-inflamatórios como a IL-1 e o TNF- α . Estas citocinas e

outros mediadores induzem ao edema e atraem neutrófilos, caracterizando a fase de exsudação, marcada pelo derrame no espaço articular. Estes neutrófilos, uma vez ativados, irão gerar destruição tecidual pela liberação de enzimas que fragmentam o colágeno e outras proteínas de matriz, além de liberarem radicais livres de oxigênio, favorecendo a destruição tecidual. Paralelo a isso, o metabolismo do ácido aracdônico é estimulado, resultando na formação de prostaglandinas biologicamente ativas, que contribuem na reabsorção óssea, além da geração de leucotrienos como o leucotrieno B₄ que é quimiotático para neutrófilos e vai aumentar, ainda mais, o número destas células no local. A fase de infiltração celular depende da cronificação das lesões. Neste momento, os linfócitos TCD4 irão ser atraídos para a sinóvia e serão as células predominantes no tecido sinovial. Um aumento no número de células como plasmócitos, macrófagos e células dendríticas também ocorrerá. Nesta fase, os auto-antígenos serão apresentados às células TCD4 auto-reativas pelas células dendríticas. Após o reconhecimento dos antígenos, as células TCD4 clonam e liberam mediadores que estimulam células inflamatórias. Estas células inflamatórias, como os macrófagos, liberam citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β , o TNF- α e a IL-6 e a IL-18 que, por sua vez, estimulam a liberação de proteases por outras células, como os neutrófilos, gerando mais dano tecidual. O produto final deste processo é a degradação do tecido articular^{12; 13; 58}.

Com a destruição do tecido articular, ocorrerá a formação de um tecido de granulação que irá substituir o tecido perdido. A formação deste tecido é caracterizada por uma membrana sinovial hiperplasia da e hipertrofiada. Este tecido de granulação, por sua vez, penetra na cartilagem articular e no osso subcondral, formando o pannus. Finalmente, pode ocorrer a substituição da cartilagem hialina por tecido conjuntivo fibroso denso, com sua penetração no osso subcondral, processo que pode estar associado ou não à formação de anquilose. O tecido de granulação pode sofrer aderências e cicatrizar-se. O tecido conjuntivo recém formado tem capacidade de maturação pluripotencial e pode apresentar metaplasia em

tecido sinovial, cartilaginosa hialina fibrosa ou óssea. O resultado final é a formação de anquilose fibrosa e, mais raramente, óssea ¹².

Desta forma, tanto a inflamação como o reconhecimento do antígeno são importantes para a defesa do organismo. No entanto, ambos podem ser perigosos se iniciados quando as células T reconhecem um auto-antígeno. A inflamação é sintonizada por mecanismos de defesa inespecíficos e o curso pode ser regulado pelo sistema imune específico capaz de iniciar e terminar a inflamação. Assim, uma doença auto-imune não seria consequência de um erro do sistema imune e, sim, secundária a um erro no início ou no término da reação inflamatória ⁵⁸.

2.4-7. Tratamento

Doença crônica de fisiopatologia complexa, a artrite idiopática juvenil ocorre em pessoas imunogeneticamente suscetíveis. As incertezas acerca de sua patogênese, a variabilidade da doença em cada indivíduo e seus efeitos sobre o estilo de vida, tornam a condução terapêutica um constante desafio ¹².

Muito embora o tratamento da AIJ seja mais de suporte que curativo e tenha um caráter individualizado, de uma forma geral tem por objetivo controlar a dor e a inflamação, preservar a função, promover o crescimento e desenvolvimento normais, além de favorecer o bem estar do paciente ⁸³.

O tratamento farmacológico é apenas uma das modalidades terapêuticas, tendo por finalidade agir nas manifestações articulares e extra-articulares, bem como nas complicações relacionadas com a persistência da atividade de doença. As drogas mais utilizadas no tratamento da artrite crônica são os antiinflamatórios não esteroidais (AINE), os glicocorticóides, as drogas anti-reumáticas de ação lenta e os imunossupressores ⁸³.

O tratamento inicial clássico para pacientes com AIJ inclui a utilização de AINEs, associados ou não a glicocorticóides. Estes medicamentos controlam a dor e a inflamação e

são dados de 4 a 8 semanas antes de iniciar o tratamento com drogas de segunda linha ⁸³. Os AINEs têm sido estudados como adjuntos ao tratamento periodontal. Um estudo retrospectivo mostrou menor perda óssea alveolar em pacientes portadores de AR, que faziam uso de AINEs, comparados a um grupo de indivíduos saudáveis que não usava medicação ¹⁸. Por outro lado, Heasman & Seymour ³¹ observaram que pacientes que faziam uso crônico deste tipo de medicamento não apresentavam diferenças no índice de placa, índice gengival, profundidade de bolsa, perda de inserção periodontal e perda óssea comparado a indivíduos não medicados.

Os glicocorticóides são potentes antiinflamatórios que possuem muitos efeitos colaterais e, desta forma, seu uso na AIJ deve ser limitado ao controle de manifestações sistêmicas. Além disso, eles podem ser utilizados nas serosites, no acometimento ocular e na infiltração articular em casos selecionados ⁸³.

As drogas anti-reumáticas modificadoras de doença (DMARDs) são drogas de segunda linha e devem ser empregadas quando a inflamação sinovial não é controlada pelas drogas de primeira linha, nos estágios iniciais. Para ser denominada como uma droga anti-reumática modificadora de doença, a droga deve mudar o curso da condição reumatológica por no mínimo 1 ano, com melhoras na função, diminuição da sinovite e prevenção do dano articular adicional. Em geral, levam de 3 a 6 meses para produzirem resposta clínica evidente ⁵⁸.

Dentre as drogas anti-reumáticas modificadoras de doença, o metotrexato (MTX) é o mais utilizado. Este medicamento tem sido indicado cada vez mais precocemente, no intuito de diminuir a evolução da doença e suas deformidades. Alguns estudos têm sido realizados para observar os mecanismos de ação do metotrexato. Atualmente, sabe-se que o metotrexato é um potente imunossupressor com capacidade de inibir a produção de citocinas por neutrófilos ⁴⁵, de suprimir a função de macrófagos e de modular a produção de citocinas pró-

inflamatórias como o TNF- α e a IL-1 β ⁵⁷. Thomas & Carrol ⁷⁶ evidenciaram que o efeito do MTX sob leucócitos é maior no fluido sinovial comparado ao sangue periférico. Este efeito mais expressivo a nível local pode estar associado à presença de maiores concentrações do MTX na membrana sinovial e no osso, comparado ao plasma ¹⁰. Até o momento, nada consta na literatura sobre os efeitos do metrotexato no tecido periodontal.

Alguns pacientes com AIJ não respondem às drogas de primeira e segunda linha. Para estes indivíduos, novas terapias com agentes biológicos incluindo drogas anti- TNF- α , anti-IL-1 β e supressoras de células B estão sendo testadas e parecem apresentar resultados promissores ²⁶.

2.5- Periodontite

A periodontite é uma inflamação crônica e destrutiva que leva à perda do tecido de suporte dos dentes e, eventualmente, à perda dentária e ao edentulismo. O ligamento periodontal e o tecido ósseo são destruídos por uma resposta imune-inflamatória à presença de bactérias, especialmente as gram-negativas, no sulco gengival. Esta destruição é provavelmente mediada por uma resposta alterada do hospedeiro, tornando-o suscetível ao desafio bacteriano ⁵⁹.

Ainda não está completamente esclarecido porque em alguns indivíduos a inflamação periodontal progride para a periodontite e em outros se restringe apenas à gengivite, uma inflamação da gengiva marginal sem destruição tecidual. No entanto, acredita-se que a progressão para periodontite possivelmente ocorre devido a uma combinação de fatores, incluindo a presença crônica de bactérias periodontopáticas, altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, enzimas proteolíticas e prostaglandina E₂ (PGE₂), somados a baixos níveis de antagonistas de citocinas e inibidores de proteases ⁵⁹.

Na literatura, alguns fatores, como o fumo e a diabetes melitus, são considerados possíveis moduladores da resposta imunológica do hospedeiro e podem ser determinantes na

variação a suscetibilidade à periodontite ^{41; 67}. Há trabalhos sugerindo que condições reumatológicas, como a artrite reumatóide e a artrite idiopática juvenil, também possam ser modificadoras do processo saúde-doença periodontal, aumentando a suscetibilidade à doença periodontal destrutiva, tanto em adultos ^{52; 53} como em idades precoces⁵⁶. No entanto, estes resultados não são corroborados por outros estudos ^{5; 72}. A Tabela 2 descreve os principais trabalhos inter-relacionando a artrite reumatóide e a AIJ com condições orais.

Tabela 2: Estudos inter-relacionando a AIJ e a artrite reumatóide com condições orais.

Autores	Principais achados
Helminen-Pakkala & Laine ³²	Mulheres com AR apresentavam número semelhante de dentes, menos inflamação gengival e presença de cálculo do que controles.
Tolo & Jorkjend ⁷⁷	Pacientes com AR apresentaram menor número de dentes e maior perda óssea alveolar do que controles. Níveis elevados de IgG e IgA contra <i>B. gingivalis</i> no soro de pacientes com AR.
Sjöström et al. ⁷²	Houve uma tendência para melhores indicadores periodontais em pacientes com AR, sem significância estatística, com exceção dos níveis de placa, significativamente menores no grupo AR.
Arneberg et al. ⁵	Pacientes com AR apresentam número de dentes semelhante ao da população em geral. Dados coletados através de questionário estruturado.
Yavuzylmaz et al. ⁸⁵	Não houve diferença no número de dentes entre pacientes com AR e controles.
Kasser et al. ⁴⁰	Pacientes com AR apresentaram níveis de placa semelhantes, maior número de dentes ausentes, mais sangramento gengival, mais bolsas profundas e maior perda de inserção (em dentes Ramfjord) do que controles. Não foi encontrada correlação entre medidas de AR e variáveis periodontais. Controlado para higiene oral, fumo, sexo e idade.
Gleissner et al. ²⁵	Pacientes com AR apresentam mais sangramento gengival, bolsas profundas e perda de inserção que controles. Todos pacientes faziam uso de NSAIDs, DMARDs, corticoesteróides e combinações e não houve correlação entre uso medicação e medidas de periodontite. PCR estava correlacionada com perda de inserção.
Mercado et al. ⁵³	Em pacientes referidos para tratamento periodontal, a prevalência de AR auto-reportada é maior do que em pacientes não-periodontais e do que na população em geral
Mercado et al. ⁵²	Pacientes com AR têm mais dentes ausentes e uma maior porcentagem de bolsas profundas (≥ 6 mm) que controles, embora apresentem níveis de placa e sangramento similares. Associações significativas foram encontradas entre perda óssea alveolar e os seguintes parâmetros de AR: número de articulações edemaciadas, escores de HAQ, níveis de PCR e VHS. Pacientes com AR e periodontite moderada a severa apresentaram maior número de articulações edemaciadas.
Miranda et al 2003 ⁵⁶	Pacientes com AIJ possuem maior frequência de perda de inserção interproximal comparado a controles saudáveis.
Miranda et al 2005 ⁵⁵	Pacientes com AIJ possuem níveis sorológicos elevados da IL-18, especialmente na presença de perda de inserção periodontal.

DMARD: drogas anti-reumáticas modificadoras de doença, PCR: proteína cápsulo-reativa, HAQ: questionário de avaliação de saúde, VHS: velocidade de hemossedimentação.

2.5-1. Hipóteses de associação entre a artrite reumatóide e a periodontite

As similaridades entre a artrite reumatóide e a periodontite têm promovido vários estudos sobre o status periodontal em pacientes com artrite reumatóide^{40; 52; 53}. Alguns destes estudos demonstram piores condições periodontais, além de uma maior frequência de perda dentária em pacientes com artrite reumatóide, comparados a controles saudáveis^{52; 53; 32; 40}. Entretanto, há evidência de condições similares ou até mesmo uma tendência para melhores indicadores periodontais em pacientes com artrite reumatóide⁷². Diferenças nos critérios de doença e nos métodos para avaliar o status da doença periodontal formam o principal problema na interpretação desta literatura. Além disso, muito embora o uso prolongado de antiinflamatórios não esteroidais não tenha alterado os índices clínicos periodontais em certo trabalho³¹, há evidência de que estas drogas, utilizadas durante um longo período de tempo, afetam a progressão da perda óssea periodontal¹⁸. Desta forma, a falha em demonstrar uma inter-relação entre a artrite reumatóide e a periodontite, talvez possa ser atribuída ao uso crônico de medicamentos antiinflamatórios pelos pacientes com artrite reumatóide.

Se a artrite reumatóide está associada, ou não, à progressão de outras condições inflamatórias como a periodontite, ainda não está completamente esclarecido. Entretanto, a AR e a periodontite parecem apresentar muitas semelhanças em seus mecanismos patogênicos. Em ambas as doenças, a progressão consiste na contínua presença de citocinas pró-inflamatórias, além de baixos níveis de inibidores de metaloproteinases (TIMP), altos níveis de metaloproteinases de matriz (MMP) e prostaglandina E₂ secretados por macrófagos, fibroblastos e outras células inflamatórias⁵¹.

Algumas hipóteses têm sido sugeridas para justificar uma possível associação entre a artrite reumatóide e a periodontite. A inter-relação entre estas doenças parece ter um caráter bidirecional. Uma das teorias que tenta explicar como a periodontite seria uma condição de risco à artrite reumatóide é baseada na exposição crônica ao lipopolissacarídeo que ocorre nas

doenças periodontais. Por este conceito, o lipopolissacarídeo de bactérias periodontopáticas serviria como uma fonte de superantígenos ao hospedeiro, podendo iniciar a cascata imunológica observada na artrite reumatóide⁵¹.

Por outro lado, a desregulação imunológica observada na AR, gerando o aumento de citocinas como a IL-1, o TNF- α e a IL-6, local e sistemicamente, faria com que pacientes com artrite reumatóide, na presença de patógenos periodontais e um meio ambiente propício, desenvolvessem uma maior suscetibilidade à periodontite⁵¹.

Além disso, a hiperatividade neutrofílica tem sido evidenciada em certas doenças crônicas^{21; 61} e parece justificar possíveis inter-relações entre algumas condições inflamatórias. Os neutrófilos são as células mais importantes nas juntas de pacientes com artrite reumatóide ativa⁴² e parecem desempenharem uma importante função na periodontite²¹. Eles têm um grande potencial citotóxico e uma enorme capacidade de causar dano tecidual¹⁴. De acordo com a literatura, estas células existem em 3 estágios: quiescência, pré-ativados e ativados. A ativação neutrofílica parece ser mediada pelo aumento de cálcio no citossol, o qual está correlacionado com a ativação do sistema oxidativo. No estágio de pré-ativação, as células estão prontas para agir, mas aguardam um segundo estímulo para que a resposta oxidativa seja efetuada. Uma célula neutrofílica em repouso pode receber um único estímulo ou ser pré-estimulada antes da ativação. Somente células ativadas mostram atividade oxidativa. No entanto, células inicialmente pré-ativadas respondem de forma mais agressiva na liberação de radicais livres do que células em repouso, quando ativadas²⁹. A hiperatividade de neutrófilos foi evidenciada tanto na periodontite quanto na artrite^{21; 61}. Desta forma, talvez uma doença possa funcionar como estímulo pré-ativador para neutrófilos periféricos, fazendo com que estas células ajam de forma mais agressiva, quando recrutadas para atuar na outra doença. Esta pré-ativação neutrofílica poderia ser tanto resultado da artrite

reumatóide quanto da periodontite, porque em ambas as doenças ocorre a circulação de substâncias capazes de pré-ativar neutrófilos como o TNF- α ⁶ e a IL-1 β ¹¹.

2.6- Interleucina -1

A família da interleucina 1 contém 3 polipeptídeos a IL-1 α , IL-1 β e a IL-1 receptor antagonista (Ra). A IL-1 α e a IL-1 β têm propriedades biológicas semelhantes e se ligam ao mesmo receptor. A IL-1 Ra é um antagonista natural da IL-1 α e β . A IL-1 α é ativa biologicamente e é liberada quando a integridade celular é comprometida como no caso da necrose, apoptose ou na permeabilidade celular. A interleucina- 1 β é sintetizada como uma proteína precursora inativa que será processada à sua forma ativa, no meio externo, pela enzima conversora da IL-1 e se transformará em uma proteína de 17 KDa com propriedades biológicas importantes para resposta inflamatória¹⁶.

A interleucina- 1 é uma citocina que desempenha um importante papel na patogênese de inflamações agudas, local e sistemicamente, bem como na destruição tecidual evidenciada na artrite reumatóide e na periodontite. Os níveis desta citocina estão aumentados no soro e no fluido sinovial de pacientes com AR^{3; 44}. No tecido gengival, a IL-1, principalmente na forma β , é considerada a principal citocina inflamatória associada ao desenvolvimento da doença periodontal destrutiva²⁴ Os níveis da IL-1 β apresentam-se maiores no fluido gengival de sítios com periodontite, comparado a sítios saudáveis²⁰.

A interleucina- 1 β é produzida principalmente por macrófagos e monócitos, mas pode ser liberada por outras células especializadas como neutrófilos^{16; 47; 33}. Sua secreção e formação ocorrem em resposta a alguns estímulos como o lipopolissacarídeo⁴⁷ e produtos da degradação tecidual, além de ser estimulada pelo componente do sistema complemento C₅ e por outras citocinas como o TNF α ¹⁶, a IL-18³⁸ e pela própria IL-1¹⁶.

Muitos de seus efeitos biológicos são relevantes para o processo inflamatório e para degradação tecidual vista na artrite reumatóide e na periodontite. Dentre os principais efeitos

da IL-1 pode-se destacar: estimula reações inflamatórias sistêmicas tais como febre e o disparo da resposta de fase aguda sistêmica, *in vivo*; estimula a resposta inflamatória local imediata que é caracterizada pela ligação de neutrófilos sanguíneos à parede dos vasos, que resulta da indução da expressão de moléculas de adesão as células endoteliais (molécula de adesão intracelular 1) ⁸, sendo um potente estímulo para o acúmulo de neutrófilos, *in vivo*; estimula células B, pré- B, T, macrófagos e neutrófilos a participarem das respostas imunes. A IL-1 também induz a liberação da PGE₂ e outras citocinas por muitos tipos de células, estimula a produção de proteases, o catabolismo da cartilagem e ósseo e o crescimento de fibroblastos. A IL-1 é ainda uma importante molécula de ligação entre o sistema neuroendócrino e o sistema imunológico ^{16; 24; 48; 75; 79}.

Em recente revisão sobre papel das citocinas na artrite reumatóide, Choy & Panay¹³ concluíram que a artrite reumatóide é caracterizada pela destruição do osso e da cartilagem secundária a uma resposta inflamatória exacerbada. Esta resposta inflamatória será mediada por citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, a IL-6 e o TNF- α que irão estimular a liberação de proteases, incluindo as metaloproteinases, promovendo a destruição tecidual.

A expressão do RNAm para citocinas pró e antiinflamatórias em células sinoviais foi medida em 5 pacientes com AIJ não- tratados e 15 pacientes com artrite juvenil sob tratamento para controlar a doença. Nos resultados, de 3 a 8% das células inflamatórias retiradas das amostras sinoviais, de pacientes com AIJ não tratados, expressavam RNAm para IL-1 β , TNF- α e INF- γ e apenas 3,9 % destas células expressavam RNAm para citocina antiinflamatória interleucina (IL) -10. Nos pacientes com artrite juvenil tratada, aproximadamente 1% das células expressavam citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , com uma expressão antiinflamatória menos freqüente. Estes dados, como já seria esperado, mostram que pacientes com artrite juvenil parecem produzir predominantemente citocinas pró-inflamatórias³⁰.

Na doença periodontal, o LPS parece induzir a produção de IL-1 β , um dos principais componentes do hospedeiro no desenvolvimento da doença periodontal^{24; 35}. Os níveis da IL-1 β parecem ser maiores no fluido gengival de pacientes com doença periodontal destrutiva, comparados àqueles com apenas gengivite e em saúde periodontal¹⁷. A produção da IL-1 β parece variar entre indivíduos e ser geneticamente determinada. Há evidência na literatura, sugerindo que os níveis quantitativos da IL-1 β , no fluido gengival, possam ser uma característica do indivíduo, e não apenas uma simples reflexão do status inflamatório do tecido periodontal²⁰. Esta hipótese está baseada no fato da quantidade da IL-1 β , em pacientes que apresentam periodontite, ser semelhante em sítios com e sem destruição tecidual, isto é, sítios com gengivite em pacientes com periodontite apresentam quantidades semelhantes da IL-1 β em relação aos sítios com perda de inserção periodontal.

Os estudos com ratos deficientes em citocinas têm promovido importantes informações sobre o entendimento do processo inflamatório. Foi observado que ratos com deficiência da interleucina -1 Ra desenvolviam sintomas similares ao da artrite reumatóide³⁴. Além disso, os níveis da IL-1 na forma β estão aumentados no soro e no fluido sinovial de pacientes com AR^{3; 44}. Baseada nestes resultados surgiu a hipótese de que o desequilíbrio entre a IL-1 e seu antagonista seria responsável pelo desenvolvimento da artrite reumatóide. Desta forma, novas terapias para artrite reumatóide e para AIJ, utilizando inibidores de IL-1, têm sido propostas e demonstrado resultados promissores²⁶.

2.7- Interleucina (IL)- 18

A IL-18 é uma citocina que atua tanto na imunidade inata quanto na adquirida. É uma citocina pró-inflamatória da família da IL-1 e sua produção está fortemente associada à produção do TNF- α e da IL-1 β , no tecido sinovial³⁸. Os níveis da IL-18 também estão correlacionados à IL-1 β no soro de pacientes com AIJ⁵⁵. Apesar de possuir muitas similaridades com a IL-1, incluindo o fato de ser secretada na forma inata e depender da

enzima conversora da IL-1 para se tornar ativa, a interleucina- 18 difere da IL-1 por sua capacidade de induzir a produção de interferon- γ , na presença da IL-12⁸⁴.

A IL-18 é produzida por macrófagos⁸⁴ em resposta a estímulos como o LPS, exotoxinas de bactérias gram+ e uma variedade de produtos microbianos. Além disso, as células de Kupffer, keratinócitos, condrócitos articulares, osteoblastos, células dendríticas e as células endoteliais também são capazes de produzir esta interleucina^{15;28}.

A interleucina 18 possui vários efeitos biológicos no processo inflamatório e imune, dentre os quais pode se destacar: modula a atividade de células Th1, células B, células natural killer (NK), macrófagos e células dendríticas²⁸; promove a expressão do TNF- α ³⁸, fator estimulador de colônia de macrófago e granulócito (GM-CSF)²⁸; estimula a produção de IFN- γ por macrófagos *in vitro*⁸⁴; induz à síntese de óxido nítrico, *in vitro*; aumenta a expressão de moléculas de adesão para leucócitos; reduz a proliferação de condrócitos; aumenta a expressão da cicloxigenase 2, aumenta a liberação de glicosaminoglicano e ativa metaloproteinases , além de estimular neutrófilos^{27; 28; 45; 54}.

A IL-18 parece ser de grande importância na patogênese da artrite reumatóide, pois foi capaz de induzir o desenvolvimento desta doença *in vivo*²⁷. A neutralização da IL-18 em ratos, onde a artrite reumatóide foi induzida pela injeção de parede celular de streptococcus direto na articulação, reduziu 60 % do edema articular e diminuiu os níveis de IL-1 e do TNF- α no fluido sinovial³⁹. Além disso, os níveis de IL-18 são elevados no tecido sinovial de pacientes com AIJ de todos os subtipos⁶⁸.

Por estar fortemente correlacionada à IL-1, a IL-18 tem despertado grande interesse na periodontia. Recentemente, Johnson e colaboradores³⁷ investigaram a concentração da IL-18 em biópsias de tecidos gengivais afetados pela periodontite e descobriram que esta citocina estava significativamente aumentada no tecido adjacente a bolsas profundas (≥ 6 mm) comparado a sítios rasos e saudáveis. Além disso, em um outro estudo realizado por nosso

grupo, evidenciou-se que pacientes com AIJ possuíam níveis elevados de IL-18, especialmente na presença de perda de inserção periodontal⁵⁵. Estes resultados sugerem que a IL-18 pode ter participação no desenvolvimento das doenças periodontais.

2.8- Metaloproteinase-8

As endopeptidases são enzimas chaves no processo de degradação tecidual. As macromoléculas da matriz podem ser degradadas por proteínas de quatro classes principais: as peptidases ou proteinases serinas, cisteínas, aspártico e metalo. Seu papel relativo *in vivo* irá variar com o meio ambiente tecidual e com o tipo de célula envolvida e particularmente com a presença ou não de células inflamatórias⁶⁵.

As metaloproteinases são enzimas proteolíticas que contém Zinco em seu domínio catalítico. Estas enzimas são principalmente, mas não exclusivamente, sintetizadas no tecido conjuntivo. As metaloproteinases podem ser sintetizadas por células do sistema hematopoético como macrófagos, neutrófilos e monócitos, por queratinócitos, células endoteliais e muitos tipos de células tumorais. Estas enzimas são secretadas em sua pró-forma, requerendo ativação extracelular. A família das metaloproteinases é dividida nos seguintes subgrupos: as colagenases intesticiais (MMP-1, MMP-8 e MMP-13), as gelatinases (MMP-2 e MMP-9), as estromelisinases (MMP-3, MMP-10 e MMP-11) e as metaloproteinases ligadas à membrana (MMP-14, MMP-15, MMP-16 e MMP-17)⁶⁵. Todas estas metaloproteinases catalisam a quebra de proteínas localizadas ou na membrana plasmática celular ou na matriz extracelular, incluindo o colágeno, gelatina, proteoglicanos, fibronectina, laminina e elastina^{9; 65}.

As metaloproteinases são responsáveis pela degradação de proteínas da matriz extracelular, durante os processos de organogênese, crescimento e renovações normais do tecido. A expressão e atividade das metaloproteinases no tecido adulto são normalmente baixas, mas aumentam significativamente em várias condições patológicas como na

periodontite, na artrite reumatóide, na osteoartrite, em doenças auto-imunes ulcerativas de pele e também na invasão de células tumorais e na metástase^{9; 78; 73}.

Uma relação tem sido estabelecida entre a forma latente e ativa das metaloproteinases extraídas do tecido gengival. Estas enzimas desempenham um importante papel na periodontite e são produzidas por cada um dos principais tipos de células encontrados no tecido periodontal humano, incluindo fibroblastos, queratinócitos, neutrófilos, macrófagos e células endoteliais^{9; 63; 78}.

A transcrição dos genes das metaloproteinases é estimulada por citocinas pro-inflamatórias, como a interleucina 1- α , IL-1 β , e também pelo TNF- α ⁴⁸. Sua inibição é realizada pelos inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMP) e pela α_2 – macroglobulina que neutralizam sua atuação por se ligar à sua forma ativa ou, muitas vezes à sua pró-forma⁷⁸. Os TIMPs são produzidos por várias células como os fibroblasto, queratinócitos, macrófagos e células endoteliais, sendo amplamente distribuídos nos fluidos do corpo⁹.

A metaloproteinase mais estudada na periodontia é a MMP-8⁷³. Os níveis desta enzima no fluido gengival são maiores em sítios que apresentam destruição periodontal comparado a sítios com gengivite e a sítios saudáveis⁵⁰. Além disso, parece diminuir com o tratamento periodontal⁵⁰. Esta metaloproteinase faz parte do grupo das collagenases intesticiais e possui, junto com a MMP-1 e MMP-13, a capacidade única, dentre as metaloproteinases, de degradar a estrutura de tripla hélice da fibra colágena, permitindo que esta cadeia se torne suscetível à degradação por outras enzimas. O alvo principal destas collagenases intesticiais é o colágeno tipo I, II e III⁸².

A MMP-8 é uma collagenase estocada no grânulo secundário dos neutrófilos e é liberada por esta célula durante a migração para a lesão inflamatória⁷. Desta forma, a MMP-8 pode ser considerada um possível marcador do número de neutrófilos presentes na lesão

inflamatória. Alguns mediadores, tais como a IL-1 e o TNF- α estimulam a liberação da MMP-8⁷⁵.

Por estar presente no grânulo secundário de neutrófilos, a MMP-8 foi inicialmente chamada de colagenase neutrofílica. No entanto, tem sido encontrada em lesões de artrite, mesmo na ausência de neutrófilos, sugerindo que outras células, como condrócitos, talvez possam produzir esta enzima⁷⁵.

É apontado pela literatura que a diferença entre sítios com e sem destruição periodontal está associada à atividade local da MMP-8 e não à sua quantidade⁶². Além disso, parece não existir correlação entre os sinais clínicos de inflamação periodontal e a atividade proteolítica no fluido gengival¹⁹. Em um estudo longitudinal de 6 meses, o padrão das formas de MMP-8 no fluido gengival foi medido em 60 sítios, em 13 pacientes com periodontite (no mínimo 5 sítios com perda de inserção ≥ 3 mm e profundidade de bolsa ≥ 5 mm) e foram comparados a 24 sítios em 11 pacientes saudáveis periodontalmente (grupo controle). Os sítios no grupo controle mostraram somente a presença de uma espécie parcialmente ativada (69 kDa) da MMP-8. No entanto, em pacientes com periodontite, esta forma estava presente em apenas 64 % das amostras e 59% da amostra de fluido, nestes pacientes, apresentavam a forma ativa (56 kDa) da MMP-8. Além disso, a atividade de metaloproteinase foi medida com um substrato fluorogênico antes e após o tratamento periodontal em sítios com profundidade ≥ 4 mm e apresentou redução significativa pós-tratamento. Os níveis de TIMP-1 e TIMP-2 foram medidos em todos os sítios e foi observado que no dia zero, os níveis de TIMP-1 e TIMP-2 eram significativamente menores no fluido de pacientes com periodontite do que em controles. No entanto, após o tratamento, os níveis de TIMP-1 tornaram-se similares nos dois grupos⁶². Estes resultados sugerem que a destruição periodontal possa ocorrer mediante um desequilíbrio entre as metaloproteinases ativas e os seus inibidores.

Vários métodos de diagnóstico, envolvendo análise por Elisa, estão sendo testados para estudar a MMP-8. Recentemente, com o objetivo de desenvolver um teste para uso no consultório (*Chair-side*), que pudesse diferenciar sítios com periodontite de sítios com gengivite e monitorar o efeito da raspagem mecânica nos níveis de colagenase, pesquisadores sugeriram um método utilizando anticorpos monoclonais para medir a presença de MMP-8 no fluido gengival. Este teste foi designado para detectar um nível limite de 1 mg/l, que distinguiria sítios com e sem periodontite, segundo estudos preliminares. O fluido gengival e os registros periodontais foram retirados antes e após o tratamento periodontal. Os resultados deste teste foram comparados com os níveis da MMP-8, medidos pelo método da imunofluorimetria, e discordaram em diferenciar sítios com e sem destruição periodontal em apenas 18 dos 207 sítios testados, sugerindo que este tipo de teste possa ser uma valiosa ferramenta para diferenciar sítios com e sem periodontite e monitorar o tratamento periodontal, num futuro bem próximo⁵⁰.

Na artrite reumatóide assim como na periodontite, as metaloproteinases intersticiais MMP-1, MMP-13 e MMP-8 também parecem desempenhar um importante papel na degradação tecidual, resultando no dano articular⁸².

3- Objetivos

Os objetivos desta dissertação foram:

- a. Analisar os níveis da IL-18, MMP-8 e IL-1 β , no fluido gengival de pacientes com AIJ, e compará-los aos níveis destes marcadores inflamatórios encontrados no fluido de indivíduos sistemicamente saudáveis.
- b. Observar se a atividade da AIJ influencia os níveis da IL-1 β , da IL-18 e da MMP-8 no fluido gengival.
- c. Evidenciar se existem correlações entre os níveis da MMP-8, da IL-1 β e da IL-18, no fluido gengival.

4- Materiais e Métodos

4.1- Tipo de Estudo

Este estudo é um estudo do tipo observacional transversal e analítico.

4.2- Amostra

4.2-1. Definição da Exposição

Os indivíduos expostos, considerados do grupo teste, eram portadores de AIJ. Esta condição foi diagnosticada por um único médico pediatra reumatologista de acordo com a classificação da *ILAR* de 2004⁶⁰. A avaliação clínica reumatológica consistiu do registro do número de articulações edemaciadas, do número de articulações apresentando dor, do número de articulações apresentando limitação de movimento (LOM) e do número total de articulações afetadas. A avaliação global médica da atividade de doença atual (AGM) foi realizada em uma escala visual análoga de 10 cm, onde 0 representa ausência de atividade de doença e 10, atividade de doença muito severa²². Além disso, foram coletadas informações sobre o tempo de duração da doença e as medicações em uso.

4.2-2. Seleção dos Pacientes com AIJ

Trinta e oito pacientes cadastrados na clínica de reumatologia pediátrica do Núcleo de Estudo da Saúde do Adolescente da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (NESA-UERJ), Rio de Janeiro, Brasil foram convidados a participar do estudo. O contato com os pacientes era realizado através de telefonemas e telegramas, de forma aleatória, sem seguir ordem alfabética ou localização da moradia. Destes, 19 pacientes concordaram em participar do estudo. No entanto, apenas 17 puderam ser incluídos na pesquisa, pois 2 apresentavam

infecção urinária crônica no momento do exame. A idade média destes 17 pacientes foi de 17,11 (\pm 2,59) anos. Dentre estes, 9 eram mulheres (52,9 %) e 8 homens (47,1%). Estes pacientes foram divididos em ativos e inativos, de acordo com a atividade da condição reumatológica. Dos 17 pacientes, 8 (47,1%) eram medicados com metotrexato associado ou não a anti-inflamatórios não esteroidais ou a glicocorticóides. O maior número de pacientes sob medicação estava no grupo que apresentava atividade de AIJ (7 indivíduos). Apenas 1 paciente fazia uso de medicamentos no grupo dos inativos.

4.2-3. Seleção do Grupo Controle

Vinte e nove indivíduos do cadastro do setor de Clínica Médica do NESA-UERJ foram contatados através de telefonemas e telegramas e convidados a participar da pesquisa, mas apenas 14 adolescentes aceitaram participar do estudo e foram enquadrados no grupo controle. Este processo de seleção era feito de forma aleatória sem seguir ordem alfabética ou localização da moradia do paciente. Todos os pacientes incluídos neste cadastro não possuíam nenhum comprometimento sistêmico e eram rotineiramente acompanhados pelo clínico geral no NESA. A idade média dos 14 participantes controles era 16,57(\pm 1,5) anos, sendo 5 mulheres (35,7%) e 9 homens (64,3%). Estes pacientes não faziam uso de qualquer medicação.

4.2-4. Critérios de exclusão dos participantes da amostra

- Pacientes portadores de artrite idiopática juvenil não poderiam apresentar, no momento do exame, outras doenças crônicas (como alterações cardiovasculares, renais, pulmonares, etc) ou infecções.
- Indivíduos do grupo controle deveriam ser atestados como sistemicamente saudáveis e não poderiam apresentar nenhuma infecção clinicamente detectável nem doenças de caráter inflamatório pelo menos durante os últimos 6 meses.

- Nenhum participante do estudo poderia ter feito uso de antibióticos sistêmicos 6 meses antes do exame. Além disso, nenhum adolescente do grupo controle poderia ter utilizado medicamentos antiinflamatórios nos últimos 6 meses anteriores ao exame.

4.3- Considerações Éticas

Este estudo foi aprovado pelos comitês de ética do Hospital Pedro Ernesto, UERJ, Rio de Janeiro, Brasil e do Hospital de Huddinge, onde se localiza o instituto Karolinska, Estocolmo, Suécia. Todos os participantes e seus responsáveis legais foram informados sobre os objetivos e métodos do estudo, e ambas as partes consentiram em participar por escrito.

4.4- Questionários

Os indivíduos foram questionados quanto ao hábito de fumar (fumante/não fumante) e registraram em uma escala visual análoga (com valores de 0 a 10) como estavam se sentindo, considerando como a artrite afeta suas vidas em geral (avaliação global do paciente, AGP)⁷¹. Seus pais/responsáveis completaram a secção de incapacidade funcional da versão brasileira do questionário de avaliação de saúde da criança (CHAQ)⁴⁶.

4.5- Avaliação do Paciente

As avaliações foram realizadas no ambulatório de reumatologia do NESA-UERJ e na Faculdade de Odontologia da UERJ (FO-UERJ). Todos os participantes eram encaminhados inicialmente à FO-UERJ, onde recebiam um questionário com perguntas sobre sua capacidade física e mental, além de sua saúde em geral. Após o questionário, era realizado o exame periodontal dos adolescentes por um examinador treinado e calibrado que estava cego para as condições reumatológicas dos participantes. Ao final do exame periodontal, o examinador lia o questionário do adolescente, e, desta forma, era informado sobre a presença ou não da AIJ. Caso o paciente fosse portador de AIJ, era encaminhado ao setor de reumatologia para que

fosse realizada sua avaliação reumatológica. Os indivíduos saudáveis eram dirigidos à clínica médica para confirmar os dados clínicos.

4.6- Avaliação Periodontal

Foram realizados os seguintes exames clínicos periodontais, em seis sítios de cada dente, excetuando-se terceiros molares e dentes em erupção, com sonda periodontal tipo Williams de pressão controlada de 0,2 N (DB764R, Aesculap AG & Co., Tuttlingen, Alemanha):

- Índice de placa visível (IPV): presença ou ausência de placa visível ¹.
- Índice de sangramento gengival (ISG): presença ou ausência de sangramento da margem gengival¹.
- Profundidade de sondagem (PS): distância entre a margem gengival e a porção mais apical sondável, em mm.
- Perda de inserção clínica (PIC): distância entre a junção amelo-cementária e a porção mais apical sondável, em mm.

O examinador foi previamente calibrado para realização dos registros de PS e PIC. A calibragem consistiu em exames repetidos, em 5 adolescentes, no intervalo de 5 a 7 dias. Foram obtidas 816 medidas para PS e para PIC. Na comparação entre os 2 exames, 80% das medidas para PS apresentaram concordância, 15 % dos registros de PS variaram em ± 1 mm e apenas 5 % das medidas de PS apresentaram uma variação superior a ± 1 mm. Dentre os registros para PIC, 85% apresentaram concordância nos 2 exames, 10% variaram ± 1 mm e 5 % apresentaram uma diferença acima de ± 1 mm . A fase de calibragem e treinamento foi realizada no mesmo local onde posteriormente os exames seriam efetuados. O indivíduo apresentando PIC proximal ≥ 2 mm, em um ou mais sítios, detectada através de sondagem, foi considerado como portador de perda de inserção clínica periodontal³⁶.

4.7- Amostras de fluido gengival

Após a avaliação clínica periodontal, o fluido gengival foi coletado de 4 a 6 sítios em dentes distintos, que apresentavam as maiores profundidades de sondagem, em cada paciente. Após isolamento relativo, secagem delicada com seringa de ar e remoção da placa supragengival, o fluido foi coletado através do método de lavagem intracrevicular, modificado por SALONEN & PAUNIO⁶⁶, com solução salina fosfato-tamponada (PBS) e aspiração contínua. Amostras com presença de sangue foram descartadas. As amostras de cada indivíduo foram agrupadas no mesmo frasco tipo *ependorf*, diluídas em PBS até 1 ml e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi removido e congelado a -70°C em frascos tipo *ependorf* para posterior análise. As amostras foram enviadas para análise no laboratório de química clínica do Instituto Karolinska, Estocolmo, Suécia.

4.8- Amostras de Sangue

Amostras de sangue foram coletadas de todos os indivíduos através de punção venosa e eram colocadas em tubos contendo EDTA, até a análise.

4.9- Ensaio de IL-1 β , MMP-8 e IL-18

A IL-1 β no fluido gengival foi mensurada como descrito por FIGUEREDO e col. em 1999²⁰. Resumidamente, um anticorpo monoclonal para IL-1 β diluído 125 vezes em solução tampão carbonato foi adicionado em placas de microtitulação e incubados durante a noite a $+4^{\circ}\text{C}$ (MAB 601, R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA). As placas foram lavadas uma vez e bloqueadas com albumina sérica humana (HSA) 1% por uma hora em temperatura ambiente. Após nova lavagem, uma curva padrão (2 pg/ml a 200 pg/ml) e 100 microlitros das amostras não diluídas foram adicionadas às placas. Estas foram incubadas a $+37^{\circ}\text{C}$ sob agitação por 45 minutos e, após, lavadas 4 vezes. O anticorpo de detecção (BAF 201, R & D

Systems, Minneapolis, MN, EUA), um anticorpo policlonal biotinizado de cabra diluído 250 vezes, foi incubado como descrito anteriormente. Após 4 lavagens, estreptavidina HRH-conjugada foi diluída 200 vezes em PBS + HSA 0,1%, adicionada às placas e incubados por 15 minutos de maneira semelhante ao anticorpo monoclonal para IL-1 β . As placas foram novamente lavadas e o substrato não diluído adicionado (HRP-TMB, Sigma, St Louis, MO, EIA). A reação foi parada com H₂SO₄ 1M após 15 minutos, e foi realizada leitura em um espectrofotômetro a 450 nm (*Millenia Kinetic Analyser, Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA, EUA*).

A IL-18 e a MMP-8 foram mensuradas através de kits de ELISA disponíveis comercialmente (IL-18, MBL, Nagoya, Japão e *Human MMP-8 Quantikine Elisa Kit, R & D Systems, Minneapolis, MN, USA*), seguindo as instruções do fabricante. A quantidade total de IL-18 e IL-1 β foram medidas em pg/ml e a MMP-8 foi expressa em ng/ml.

4.10- Marcadores laboratoriais de atividade de AIJ

A velocidade de hemossedimentação (VHS), em mm/h, foi avaliada. A VHS foi determinada pelo método de Westergreen na primeira hora.

4.11- Análise Estatística:

O indivíduo foi considerado a unidade de análise e o nível de significância foi estabelecido em 5%. Os dados foram expressos como medianas e percentis 25 e 75 ou como médias e desvios-padrão. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para testar a diferença entre os dois grupos, AIJ e controle, bem como na comparação entre ativos versus inativos, para todas as variáveis analisadas. O Coeficiente de correlação de Spearman foi calculado para avaliar correlações entre os marcadores inflamatórios no fluido gengival. As análises foram realizadas no programa estatístico *SPSS 8.0 for Windows student version*.

5- Resultados

5.1- Pacientes com AIJ:

A Tabela 3 descreve os 17 pacientes com AIJ quanto ao diagnóstico, à atividade da doença reumatológica e à medicação administrada.

Tabela 3: Diagnóstico da AIJ, classificação quanto à atividade da AIJ e descrição do uso de medicação por paciente.

Identificação do paciente	Diagnóstico da AIJ	Presença de atividade	Medicação
1	Oligoartrite persistente	Inativo	Sem medicação
2	Artrite relacionada com entesite	Inativo	Sem medicação
3	Artrite relacionada com entesite	Inativo	Sem medicação
4	Oligoartrite persistente	Inativo	Sem medicação
5	Oligoartrite persistente	Inativo	Metotrexato + AINE
6	Oligoartrite persistente	Ativo	Metotrexato + AINE
7	Oligoartrite persistente	Inativo	Sem Medicação
8	Artrite sistêmica	Inativo	Sem medicação
9	Artrite sistêmica	Inativo	Sem medicação
10	Poliartrite FR -	Ativo	Metotrexato
11	Poliartrite FR -	Ativo	Metotrexato+Corticóide
12	Poliartrite FR -	Inativo	Sem medicação
13	Poliartrite FR -	Ativo	Metotrexato+ Corticóide
14	Artrite sistêmica	Ativo	Metotrexato
15	Oligoartrite persistente	Inativo	Sem medicação
16	Artrite relacionada com entesite	Ativo	Metotrexato
17	Artrite sistêmica	Ativo	Metotrexato+Corticóide

AINE: Anti-inflamatório não esteroidal

A média aritmética encontrada no grupo AIJ para a idade de início da doença foi 9,23 ($\pm 4,26$) anos e para o tempo de duração da AIJ foi 6,88 ($\pm 3,99$) anos. A média da avaliação global médica (AGM) foi 1,67 ($\pm 2,76$) e da avaliação global do paciente (AGP) foi 1,81 ($\pm 2,63$). O número médio de articulações com edema, dor, limitação de movimento e o número total de articulações afetadas nos 17 pacientes com AIJ foram 1,41 ($\pm 2,85$), 2,05 ($\pm 4,09$), 3,41 ($\pm 7,94$) e 3,7 ($\pm 8,85$), respectivamente. A média dos valores obtidos no questionário de avaliação da saúde em criança (Chaq) foi 0,51 ($\pm 0,86$).

5.2- Pacientes AIJ X Controles:

Nenhum paciente da amostra relatou ser fumante.

5.2-1. Achados clínicos periodontais:

A Tabela 4 descreve os dados clínicos periodontais encontrados nos grupos, AIJ e controle. As medianas do percentual por indivíduo de faces com placa visível (IPV) e sangramento gengival, no grupo AIJ e nos controles, não apresentaram nenhuma diferença estatística. A mediana do percentual de bolsas (PS) ≥ 4 mm e dos sítios com perda de inserção proximal (PIC) ≥ 2 mm, foram semelhantes entre os grupos.

Não houve diferença estatística entre as médias de idade do grupo controle comparado ao grupo AIJ. Apenas 3 pacientes em cada grupo apresentaram perda de inserção interproximal (PIC) ≥ 2 .

Tabela 4. Medianas e percentis (25% e 75%) do percentual por indivíduo de faces com placa visível (IPV), sangramento marginal (ISG), sítios com PS \geq 4 mm e sítios com PIC \geq 2 mm nos grupos AIJ e controles.

	AIJ	Controles	P
PS	2,97 (1,35-7,09)	2,74 (0,89-9,06)	NS
PIC	0 (0- 0,3)	0 (0-0,16)	NS
IPV	40,77 (20,94-57,21)	32,93 (15,84 -44,98)	NS
ISG	34,82 (17,43-60,26)	39,99 (27,67-44,85)	NS

5.2-2. Marcadores inflamatórios no fluido gengival e no plasma:

A Tabela 5 mostra os níveis dos marcadores inflamatórios analisados no fluido gengival e os níveis da VHS, nos dois grupos, AIJ e controle. Não foram encontradas diferenças entre a IL-18 e a MMP-8 entre os grupos. O valor médio da VHS tendeu a ser maior no grupo AIJ. Houve uma tendência para os níveis da IL-1 β estarem maiores no grupo controle (27,89 pg/ml versus 14,56 pg/ml no grupo AIJ, p= 0,06).

Tabela 5. Medianas e percentis (25% e 75%) dos níveis da IL-18 (pg/ml), IL-1 β (pg/ml) e MMP-8 (ng/ml), no fluido gengival e da VHS em mm/h, no grupo AIJ e controle.

	AIJ	Controles	P
MMP-8	10,77 (6,8-12,95)	10,36 (7,4-16,31)	NS
IL-18	41,15 (19,94- 103,85)	37,52 (24,98-63,82)	NS
IL-1β	14,56 (9,21-27,71)	27,89 (18,34-48,08)	0,06
VHS	20 (9,5-34,5)	7 (2-20)	0,07

5.3- Ativos X Inativos

Os pacientes com AIJ foram divididos de acordo com a presença ou ausência de atividade da condição reumatológica. Pacientes ativos estavam com o valor da VHS superior

a 20 mm/h e possuíam pelo menos uma articulação com dor e/ou edema. No momento das avaliações, somente 7 (41,2%) dos 17 pacientes com AIJ estavam em atividade.

5.3-1. Achados clínicos periodontais:

A Tabela 6 descreve os achados clínicos periodontais nos dois grupos, AIJ sem atividade e AIJ com atividade. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, entre os dois grupos, para as variáveis clínicas periodontais analisadas.

Tabela 6. Medianas e percentis (25% e 75%) do percentual por indivíduo de faces com placa visível (IPV), sangramento marginal (ISG), sítios com PS \geq 4 mm e sítios com PIC \geq 2 mm no grupo de pacientes ativos e inativos.

	AIJ Ativo	AIJ Inativo	P
PS	2,22 (0-35,18)	3,2 (1,43-7,07)	NS
PIC	0 (0-0)	0 (0-0,61)	NS
IPV	38,54 (14,28-53,57)	41,81 (33,45-61,04)	NS
ISG	34,82 (8,9-78,12)	35,81 (19,89-57,8)	NS

5.3-2. Achados reumatológicos

A Tabela 7 mostra as variáveis reumatológicas de acordo com a presença ou ausência de atividade da AIJ. A mediana dos valores absolutos da VHS, do CHAQ, da AGM, do número de articulações com edema, dor, limitação de movimento e o número total de articulações afetadas foram significativamente mais elevados no grupo com atividade.

Não houve diferenças entre a idade dos pacientes, a idade de início da AIJ (8,7 anos para os inativos e 10 anos para ativos), nem no tempo de duração da doença (6,5 anos para inativos e 7,42 para ativos), entre os dois grupos, ativos e inativos.

Tabela 7. Medianas e percentis dos parâmetros reumatológicos.

	AIJ Ativo	AIJ Inativo	P
Edema	3 (1-7)	0 (0-0)	$P \leq 0,0001^*$
Dor	2 (1-3)	0 (0-0)	0,002*
VHS	39 (22-51)	10 (7,25-20)	0,01*
Chaq	1 (0-2)	0 (0-0,06)	0,03*
LOM	3 (2-12)	0 (0-0)	$p \leq 0,0001^*$
TOT	3 (2-12)	0 (0-0)	$p \leq 0,0001^*$
AGM	2,8 (1,5-7,8)	0 (0-0)	$p \leq 0,0001^*$

LOM: número de articulações com limitação de movimento

TOT: número total de articulações afetadas

* Grupo AIJ ativo X AIJ inativos, teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$.

5.3-3. Marcadores inflamatórios no fluido

A Tabela 8 apresenta os níveis da IL-18 (pg/ml), MMP-8(ng/ml) e IL-1 β (pg/ml), nos dois grupos, ativos e inativos. A IL-18 e a IL-1 β mostraram-se semelhantes entre os grupos. No entanto, a MMP-8 apresentou uma tendência a maiores níveis no grupo sem atividade (11,6 pg/ml nos ativos versus 7,36 nos inativos $p= 0,06$).

Tabela 8. Mediana e percentis dos níveis da IL-1 β (pg/ml), IL-18 (pg/ml) e MMP-8 (ng/ml) no fluido gengival.

	AIJ Ativo	AIJ Inativo	P
MMP-8	7,36 (5,51-10,92)	11,6 (8,29-14,34)	0,06
IL-18	28,48 (24,6-118,86)	46,24 (17,55-78,39)	NS
IL-1β	14,06 (7,84-16,31)	22,28 (9,8-45,2)	NS

5.4- Correlações entre os marcadores inflamatórios no fluido gengival.

No fluido gengival de ambos os grupos, foram observadas correlações positivas tanto entre a IL-1 β e a IL-18 ($r_s = 0,38$, $p \leq 0,05$) como entre a IL-1 β e a MMP-8 ($r_s = 0,46$, $p \leq 0,01$).

6- Discussão

Os níveis da IL-18 e da MMP-8 no fluido gengival de pacientes AIJ e em controles foram semelhantes, mas a IL-1 β tendeu a ser maior no grupo controle ($p= 0,06$). Estes resultados estão de acordo com os achados de Miranda e col. 2005⁵⁵, onde nenhuma diferença significativa foi encontrada para a IL-1 β , no fluido gengival, entre AIJ e controles. Na comparação entre adolescentes portadores de AIJ com e sem atividade, os níveis da IL-1 β e da IL-18 foram semelhantes, entretanto a MMP-8 apresentou-se maior no grupo de inativos, apesar de não alcançar diferenças significantes. Uma possível justificativa para uma tendência a maiores níveis da IL-1 β no grupo controle e da MMP-8 no grupo de inativos poderia ser o uso de medicações pelos pacientes com AIJ, especialmente aqueles com atividade de doença reumatológica. A principal droga utilizada pelos pacientes neste estudo foi o metrotexato, uma droga anti-reumática de ação lenta modificadora de doença.

Os efeitos do metrotexato ainda não são totalmente conhecidos. Entretanto, sabe-se que ele é capaz de reduzir, *in vitro*, a produção da interleucina-8 por neutrófilos⁴⁵. A interleucina (IL) -8 é uma citocina quimiotática para neutrófilos. Como a mensuração dos níveis da MMP-8 no fluido gengival pode estar associada à presença de neutrófilos no infiltrado inflamatório do tecido gengival, a diminuição desta citocina quimiotática, evidenciada *in vitro*, poderia alterar a quimiotaxia neutrofílica *in vivo*, justificando, desta forma, níveis menores da MMP-8 no fluido gengival de pacientes com atividade de AIJ. Além disso, o metrotexato suprime a função de macrófagos e modula a produção da IL-1 β , por estas células, tanto *in vitro* como *in vivo*⁵⁷. Thomas & Carrol⁷⁶ evidenciaram que o MTX diminui a concentração da IL-1 β , o número de leucócitos e a proporção de neutrófilos no fluido sinovial, apesar de não promover mudanças no número destas células no sangue

periférico. Este efeito expressivo a nível local, que não foi acompanhado sistemicamente, pode estar associado ao fato da concentração do MTX ser maior na membrana sinovial e no osso, comparado ao plasma¹⁰. Talvez um mecanismo similar possa ocorrer no fluido gengival, pois estudos recentes evidenciaram maiores níveis sorológicos da IL-1 β e da IL-18 em pacientes com AIJ comparados a controles⁵⁵, o que não foi acompanhado no fluido gengival. Assim, a medicação utilizada pelos pacientes portadores de AIJ, em nosso estudo, pode ter influenciado os resultados. Talvez seja interessante, em trabalhos futuros, a inclusão de pacientes em atividade de AIJ que ainda não tenham entrado nos regimes de medicação, para que se possa analisar se existe de fato um efeito supressor destas drogas sob as citocinas e enzimas no fluido gengival.

Além disso, em nosso estudo, foram encontradas correlações significantes entre a IL-1 β e os outros marcadores, a IL-18 e a MMP-8, sugerindo uma associação entre estes mediadores na inflamação periodontal. Uma correlação entre IL-1 β e a IL-18 já havia sido observada em biópsias de tecido sinovial de pacientes com artrite reumatóide³⁸ bem como no soro de pacientes com AIJ⁵⁵. No entanto, nenhum trabalho havia sido realizado para saber a relação entre estas citocinas no fluido gengival. Tem sido demonstrado que a IL-18 induz a produção de outras citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β e o TNF- α ³⁸. Nossos achados parecem estar de acordo com este princípio. Como a MMP-8 é produzida em resposta a mediadores inflamatórios como o TNF- α e a IL-1 β ⁷⁵, nós também encontramos uma correlação positiva entre a MMP-8 e a IL-1 β .

Com relação aos dados clínicos, a mediana do percentual de faces com placa visível, sangramento marginal, sítios com profundidade de sondagem (PS) \geq 4 mm e sítios com perda de inserção clínica (PIC) \geq 2mm foram similares entre os grupos AIJ e controles, bem como entre AIJ ativos e inativos. Um trabalho inicial realizado por nosso grupo em 2001⁵⁶ encontrou piores indicadores periodontais nestes pacientes com AIJ. No entanto,

recentemente nosso grupo comparou os resultados encontrados em 2001, com os resultados deste estudo realizado em 2004. Nenhuma diferença foi encontrada nas condições periodontais entre estes pacientes com AIJ e os controles, após 2 anos (dados não publicados). Em ambos os grupos, os parâmetros periodontais seguiram um padrão similar com o tempo, porém, no grupo AIJ, os indicadores reumatológicos e os níveis sistêmicos de atividade reumatológica melhoraram, o que pode ter influenciado os resultados clínicos periodontais.

7- Conclusão

Pela metodologia aplicada e pelos resultados obtidos pode-se concluir que:

- a. Apesar de não termos encontrado diferenças significantes para os níveis da MMP-8, IL-18 e IL-1 β no fluido gengival, entre pacientes com artrite idiopática juvenil (AIJ) e controles, os níveis da IL-1 β tenderam a serem menores no grupo AIJ.
- b. A atividade da AIJ não influenciou os níveis da IL-1 β e da IL-18, no fluido gengival, no entanto a MMP-8 apresentou uma tendência a menores níveis no grupo AIJ em atividade.
- c. No fluido gengival de ambos os grupos, foram observadas correlações positivas tanto entre a IL-1 β e a IL-18 como entre a IL-1 β e a MMP-8.

Referências

- 1- AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*, v.25, n.4, p.229-35, dec. 1975.
- 2- ALBANI, S.; CARSON, D. A. A multistep molecular mimicry hypothesis for the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunol Today*, v.17, n. 10, p. 466-70, oct. 1996.
- 3- ALTOMONTE, L. et al. Serum levels of interleukin-1b, tumour necrosis factor-a and interleukin-2 in rheumatoid arthritis. Correlation with disease activity. *Clin Rheumatol*, v.11, n.2, p.202-5, jun. 1992.
- 4- ANTUNES, L. Auto-imunidade. In: ANTUNES, L. *Imunologia Geral*. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. cap. 15, p.99-101.
- 5- ARNEBERG, P. et al. Remaining teeth, oral dryness and dental health habits in middle-aged Norwegian rheumatoid arthritis patients. *Community Dent Oral Epidemiol*, v.20, p.292-296. 1992.
- 6- BAJAJ, M.S. et al. Priming of human neutrophil functions by tumor necrosis factor: enhancement of superoxide anion generation, degranulation, and chemotaxis to chemoattractants C5a and F-Met-Leu-Phe. *Inflammation*, v.16, n.3, p.241-50, jun.1992.
- 7- BENTWOOD, B.J.; HENSON P.M. The sequential release of granule constituents from human neutrophils. *Journal of Immunology*, v. 124, v. 2, p. 855-862, fev.1980.
- 8- BEVILACQUA, M. P. et al. Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines. *J Clin Invest*, v. 76, n.5, p. 2003-11, nov. 1985.
- 9- BIRKEDAL-HANSEN, H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*, v.28, p.500-10, nov. 1993.
- 10- BOLOGNA, C. et al. Methotrexate concentrations in synovial membrane and trabecular and cortical bone in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis and Rheumatism*, v. 37, n.12, p.1770-1773, dec.1994
- 11- BRANDOLINI, L. et al. Interleukin-1 beta primes interleukin-8-stimulated chemotaxis and elastase release in human neutrophils via its type I receptor. *Eur Cytokine Netw*, v.8, n.2, p.173-8, jun. 1997.

- 12- CARVALHO, M. A. P. Artrite reumatóide. In: MOREIRA, C.; CARVALHO M. A. P. *Noções Práticas de Reumatologia*. 2 ed. Belo Horizonte: *Health* Editora, 1996. cap. 17, p. 419-434.
- 13- CHOY, E. H.; PANAYI, G. S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, v.344, n.12, p.907-16, mar. 2001.
- 14- CROSS, A. et al. Neutrophil gene expression in rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*, v. 12, n. 3, p. 191-202, oct. 2005.
- 15- DINARELLO, C. A.; FANTUZZI, G. Interleukin-18 and host defense against infection. *J Infect Dis*, v. 15, n.2, p. S370-84, jun. 2003.
- 16- EBERSOLE, J.L.; CAPPELLI, D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*,v. 23, p. 19-49, jun. 2000.
- 17- FAIZUDDIN, M.; BHARATHI, S.H.; ROHINI, N.V. Estimation of interleukin-1beta levels in the gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res*, v. 38, n. 2, p. 111-4, apr. 2003.
- 18- FELDMAN, R. S. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the reduction of human alveolar bone loss. *J Clin Periodontol* , v.10, n.2, p. 131-6, mar. 1983.
- 19- FIGUEREDO, C. M. et al. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, v.31, n.8, p. 615-9, aug. 2004.
- 20- FIGUEREDO, C. M. et al. Increased interleukin-1b concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic trait of periodontitis. *J Periodontol*, v.70, n.12, p.1457-63, dec. 1999.
- 21- FIGUEREDO, C. M. S. Hyperreactive neutrophils in periodontitis.1999. 58 p. (*Thesis*). Periodontology, Karolinska Institutet, Stockholm.
- 22- FOSTER, H. E. et al. Outcome in adults with juvenile idiopathic arthritis: a quality of life study. *Arthritis Rheum*, v.48, n.3, p.767-75, mar. 2003.
- 23- GARE, B. A. Epidemiology. *Baillieres Clin Rheumatol*, v. 12, n.2, p. 191-208, may. 1998.
- 24- GEMMELL, E.; MARSHALL, R. I.; SEYMOUR, G. J. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*, v.14, p. 112-43, jun. 1997.
- 25- GLEISSNER, C. et al. The role of risk factors for periodontal disease in patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Med Res*, v.3, n.8, p.387-92, aug 1998.
- 26- GOLDBLATT, F; ISENBERG, D. A. New therapies for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*, v. 140, p.195-204. 2004.

- 27- GRACIE, J. A. Interleukin-18 as a potential target in inflammatory arthritis. *Clin Exp Immunol*, v. 136, n.3, p.402-4, jun. 2004.
- 28- GRACIE, J. A. et al. A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, v.104, n.10, p.1393-401, nov. 1999.
- 29- HALLET, M. B.; LLOYDS D. Neutrophil priming: the cellular signals that say 'amber' but not 'green'. *Immunol Today*, v. 16, n. 6, p. 264-8, jun.1995.
- 30- HARJACEK, M. et al. Prominent expression of mRNA for proinflammatory cytokines in synovium in patients with juvenile rheumatoid arthritis or chronic Lyme arthritis. *J Rheumatol*, v. 27, n.2, p. 497-503. 2000.
- 31- HEASMAN, P. A.; SEYMOUR R. A. An association between long-term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy and the severity of periodontal disease. *J Clin Periodontol*, v.17, n.9, p. 654-8, oct. 1990.
- 32- HELMINEN-PAKKALA, E.; LAINE, V. The relationship between periodontal findings and articular involvement in a group of subjects suffering from rheumatoid arthritis. *Proc Finn Dent Soc*, v.69, n.2, p.52-5, April. 1973.
- 33- HENDLEY, T. M., STEED, R. B., GALBRAITH, G. M. Interleukin-1 beta gene expression in human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodontol*, v. 66, n.9, p. 761-5, sep. 1995.
- 34- HORAI, R. et al. Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *Exp Med*. 2000, v. 191, n.2, p.313-20, jan. 2000.
- 35- HOU, L. T. et al. Interleukin-1b, clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsed gingival tissues from periodontitis patients. *J Periodontal Res*, v.38, n.3, p.247-54, Jun. 2003.
- 36- JENKINS, W. M.; PAPAPANOU, P. N. Epidemiology of periodontal disease in children and adolescents. *Periodontol 2000*, v.26, p.16-32. 2001.
- 37- JOHNSON, R. B.; SERIO, F. G. Interleukin-18 concentrations and the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol*, v. 76, n.5, p. 785-90, may. 2005.
- 38- JOOSTEN, L. A. et al. Association of interleukin-18 expression with enhanced levels of both interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in knee synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, v.48, n.2, p.339-47, Feb. 2003.
- 39- JOOSTEN, L. A. et al. An IFN-gamma-independent proinflammatory role of IL-18 in murine streptococcal cell wall arthritis. *J Immunol*, v.165, n. 11, p. 6553-8, dec. 2000.

- 40- KASSER, U. R. et al. Risk for periodontal disease in patients with longstanding rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, v.40, n.12, p.2248-51, dec. 1997.
- 41- KINANE, D. F.; CHESTNUTT, I. G. Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Méd*, v.11, n.3, p. 356-65. 2000.
- 42- KITSIS, E.; WEISSMANN, G. The role of the neutrophil in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop Relat Res*, v. 265, p. 63-72, apr. 1991.
- 43- KORNMAN, K.S.; DI GIOVINE F. S. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol*, v. 3, n. 1, p. 327-38, jul.1998.
- 44- LETTESJO, H. et al. Synovial fluid cytokines in patients with rheumatoid arthritis or other arthritic lesions. *Scand J Immunol*, v. 48, n. 3, p. 286-92, sep. 1998.
- 45- LEUNG, B. P. et al. A role for IL-18 in neutrophil activation. *J Immunol*, v. 167, n. 5, p. 2879-86, sep. 2001.
- 46- MACHADO, C. S. et al. The Brazilian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol*, v. 19, n. 4 (Suppl. 23), p. S.25-9, jul- aug. 2001.
- 47- MACNAUL, K. L. Analysis of IL-1 and TNF-alpha gene expression in human rheumatoid synoviocytes and normal monocytes by in situ hybridization. *J Immunol*, v. 145, n. 12, p. 4154-66, dec. 1990.
- 48- MACNAUL, K. L. Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts. Synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on stromelysin expression. *J Biol Chem*, v. 265, n. 28, p. 17238-45, oct. 1990.
- 49- MANGGE, H. et al. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. Correlation with conventional inflammation parameters and clinical subtypes. *Arthritis Rheum*, v. 38, n.2, p. 211-20, feb, 1995.
- 50- MANTYLA, P. et al. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res*, v. 38, n. 4, p. 436-9, aug. 2003.
- 51- MERCADO, F. B.; MARSHALL, R. I.; BARTOLD, P. M. Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, v.30, n.9, p.761-72, Sept. 2003.
- 52- MERCADO, F. B. et al. Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol*, v.72, n.6, p.779-87, Jun. 2001.
- 53- MERCADO, F. et al. Is there a relationship between rheumatoid arthritis and periodontal disease? *J Clin Periodontol*, v.27, n.4, p.267-72, April. 2000.

- 54- MCINNES, I. B. et al. Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation. *Immunol Today*, v. 21, n.7, p. 312-5, jul. 2000.
- 55- MIRANDA, L. A. et al. Increased interleukin-18 in patients with juvenile idiopathic arthritis and early attachment loss. *J Periodontol*, v. 76, n.1, p. 75-82, jan. 2005.
- 56- MIRANDA, L. A. et al. Periodontal conditions in patients with juvenile idiopathic arthritis. *J Clin Periodontol*, v. 30, n.11, p. 969-74. 2003.
- 57- NEURATH, M. F. et al. Methotrexate specifically modulates cytokine production by T cells and macrophages in murine collagen-induced arthritis (CIA): a mechanism for methotrexate-mediated immunosuppression. *Clin Exp Immunol*, v. 115, n.1, p. 42-55, jan. 1999.
- 58- OLIVEIRA, S. K. F. AII: Histórico, epidemiologia e etiopatogenia. In: OLIVEIRA, S. K. F.; AZEVEDO, E. C. L. *Reumatologia Pediátrica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter Editora, 2001. cap. 9, seção 9-2, p.145-52.
- 59- PAGE, R.C. et al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*, v.14, p. 216-248, jun. 1997.
- 60- PETTY, R. E. et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*, v.31, n. 2, p. 390- 2, feb. 2004.
- 61- PILLINGER, M. H.; ABRAMSON, S. B. The neutrophil in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North A*, v. 21, n. 3, p. 691-714, aug. 1995.
- 62- POZO, P. et al. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontal Res*, v. 40, n. 3, p. 199-207, jun. 2005.
- 63- PRESHAW, P. M. et al. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. *J Clin Periodontol*, v. 31, n.9, p. 697-707, sep. 2004.
- 64- RAVELLI, A. et al. Correlation between conventional disease activity measures in juvenile chronic arthritis. *Ann Rheum Dis*, v.56, n.3, p.197-200, Mar. 1997.
- 65- REYNOLDS, J.J.; MEIKLE M. C. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol 2000*, v.14, p.144-57, jun. 1997.
- 66- SALONEN, J. I.; PAUNIO, K. U. An intracrevicular washing method for collection of crevicular contents. *Scand J Dent Res*, v.99, n.5, p.406-12, Oct. 1991.
- 67- SANDBERG, G. E. Type 2 diabetes and oral health: a comparison between diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract*, v. 50, n. 1, p. 27-34, sep. 2000.

- 68- SCOLA, M. P. et al. Interferon-gamma: interleukin 4 ratios and associated type 1 cytokine expression in juvenile rheumatoid arthritis synovial tissue. *J Rheumatol*, v.29, n.2, p.369-78, Feb. 2002.
- 69- SEWELL, K, L.; TRENTAM, D.E. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Lancet*, v.341, n. 8840, p. 283-6, jan. 1993.
- 70- SHARMA, S.; SHERRY, D. D. Joint distribution at presentation in children with pauciarticular arthritis. *J Pediatr*, v.134, n.5, p.642-3, May. 1999.
- 71- SINGH, G. et al. Measurement of health status in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, v.37, n.12, p.1761-9, Dec. 1994.
- 72- SJOSTROM, L. et al. Periodontal conditions in adults with rheumatoid arthritis. *Community Dent Oral Epidemiol*, v.17, n.5, p.234-6, Oct. 1989.
- 73- SORSA, T.; TJADERHANE, L.; SALO, T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*, v.10, n.6, p. 311-8, nov. 2004.
- 74- SPENCE, A. P. Articulações. In: Spence, A. P. *Anatomia Humana Básica*, 2ª Ed. São Paulo. Editora Manole, 1991, cap. 6, p.157-181.
- 75- TETLOW, L.C.; ADLAM, D.J.; WOOLLEY, D.E. Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human osteoarthritic cartilage: associations with degenerative changes. *Arthritis Rheum*, v. 44, n.3, p.585-94, mar. 2001.
- 76- THOMAS, R.; CARROLL, G. J. Reduction of leukocyte and interleukin-1 beta concentrations in the synovial fluid of rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Arthritis Rheum*, v.36, n. 9, p. 1244-52, sep. 1993.
- 77- TOLO, K.; JORKJEND, L. Serum antibodies and loss of periodontal bone in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Periodontol*, v.17, n.5, p.288-91, May. 1990.
- 78- UITTO, V.J.; OVERALL, C.M.; MCCULLOCH, C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*, v. 31, p. 77-104. 2003.
- 79-VAN DER VELDEN, V. H. et al. Interleukin-1beta and interferon-gamma differentially regulate release of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 by human bronchial epithelial cells. *Eur Cytokine Netw*, v. 9, n. 3, p. 269-77, sep. 1998.
- 80- VAN EDEN, W. et al. Immunopotentiating heat shock proteins: negotiators between innate danger and control of autoimmunity. *Vaccine*, v. 21 (9-10), p. 897-901, feb. 2003.

- 81- VAN ROSSUM, M. Radiologic features in juvenile idiopathic arthritis: a first step in the development of a standardized assessment method. *Arthritis Rheum*, v. 48, n.2, p. 507-15, feb. 2003.
- 82- VINCENTI, M.P.; BRINCKERHOFF, C. E. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res*, v. 4, n. 3, p. 157-64, nov. 2002.
- 83- WEISS, J. E.; ILOWITE, N. T. Juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Clin North Am*, v. 52, n.2, p. 413-42, apr. 2005.
- 84- YAMAMURA, M. et al. Interferon-gamma-inducing activity of interleukin-18 in the joint with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, v. 44, n. 2, p. 275-85, feb. 2001.
- 85- YAVUZYILMAZ, E. et al. Clinical and immunological characteristics of patients with rheumatoid arthritis and periodontal disease. *J Nihon Univ Sch Dent*, v.34, n.2, p.89-95, Jun. 1992.

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](#)